

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**SAĞLIKLI GÖNÜLLÜLERDE ENERJİ İÇECEKLERİNİN  
ENDOTEL FONKSİYONUNA AKUT ETKİSİ**

**Dr. Cavidan AHUNDOVA**

**KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç.Dr.Cansın TULUNAY KAYA**

**ANKARA  
2014**

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜRLER

Asisitanlık eğitimim süresince her türlü yardım ve fedakarlığı sağlayan Kardiyoloji Ana Bilim Dalı başkanı Prof.Dr.Çetin EROL'a teşekkürü borç bilirim.

Tezimin hazırlanmasının her aşamasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Doç. Dr.Cansın TULUNAY KAYA'ya ayrıca teşekkür etmek isterim.

İhtisas sürem boyunca bana emeği geçen tüm hocalarım, ayrıca kardiyoloji anabilim dalında birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, sağlık personeline ve laboratuvar teknisyenlerine ve teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında kullanmış olduğum kaynak programında benden desteğini esirgemeyen asistan arkadaşım Eren GÜRSOY'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her adımda bana manevi destek olan biricik kardeşim Sayid AKHUNDOV'a , anneme ve babama çok teşekkür ederim.

Tezimi hazırladığım sürece bana her konuda destek olan, çok sevdiğim eşim Onur DİNÇ'e sabır ve anlayışından dolayı, hayatımın anlamı, gözümün nuru, bana ilham kaynağı olan güzeller güzeli kızım Deniz DİNÇ'e hayatımda oldukları için çok çok teşekkür ederim

Dr. Cavidan AHUNDOVA

<b>İÇİNDEKİLER</b>	
<b>Kabul ve Onay</b>	<b>i</b>
<b>Önsöz</b>	<b>i</b>
<b>İçindekiler</b>	<b>ii</b>
<b>Simgeler ve Kısaltmalar Dizini</b>	<b>iv</b>
<b>Şekiller Dizini</b>	<b>vi</b>
<b>Tablolar Dizini</b>	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1.Enerji içecekleri	3
2.2.Endotel	7
2.2.1.Nitrik Oksit Üretimi	9
2.2.2.Endotel Disfonksiyonu	11
2.3.Endotel Fonksiyonunun Değerlendirilmesi	16
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>20</b>
3.1.Araştırmaya Hasta Alımı	20
3.2.Akım Aracılı Vazodilatasyon Ölçümleri	21
3.3.İstatiksel Analiz	24
<b>4. BULGULAR</b>	<b>25</b>
4.1.Genel Özellikler	25
4.2.Enerji İçeceklerinin Tüketimi Sonrası Bulgular	25
4.3.Enerji İçeceği Öncesi ve Sonrası %AAV Değerlerinin Karşılaştırılması	28
4.4.Alt Gruplar Arasında Enerji İçeceği Öncesi ve Sonrası Değerlerin Karşılaştırılması	29
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>31</b>
<b>6. SONUÇLAR</b>	<b>37</b>
<b>ÖZET</b>	<b>38</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>39</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>40</b>

## KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AAV	Akım aracılı vazodilatasyon
AÇ	Arteriyel çap
ADMA	Asimetrik dimetil arjinin
COX	Sikloksijenaz
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
DKB	Diyastolik kan basıncı
DNA	Deoksiribonukleik asid
DM	Diabetes Mellitus
EİÖ	Enerji içeceği öncesi
EİS	Enerji içeceği sonrası
EKHF	Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
EDRF	Endotel salınımlı gevşetici faktör
ET-1	Endotelin-1
EKG	Elektrokardiyografi
eNOS	Endotelial nitrik oksid sentaz
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
İCAM	İntercellüler adhezyon molekül
İL-6	İnterlökin-6
L-Arg	L-Arginin
L-Cit	L-Sitrulin
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein
NO	Nitrik oksid
NOS	Nitrik oksid sentaz
NAPH	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
PW	Puls Wave
PGI2	Prostasiklin
PAF	Platelet aktive edici faktör
SKB	Sistolik Kan Basıncı
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VKİ	Vücut kitle indeksi
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
vWF	Von Willenbrand faktörü
YD	Yüzde değişim

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 2.1.** Endotelin bir takım uyaranlara yanıt olarak salgıladığı mediatörler ve etkileri

**Şekil 2.2.** Diabetes mellitusta endotel disfonksiyonu nedenleri

**Şekil 3.1.** Oklüzyon öncesi bazal arteriyel çap ölçümü

**Şekil 3.2.** Oklüzyon öncesi bazal akım hızının ölçümü

**Şekil 3.3.** Oklüzyon kaldırıldıktan sonra 75.saniye AÇ ölçümü

**Şekil 4.1.** Bazal ve Enerji içeceği sonrası arterial çap (AÇ) ölçümlerinin zamana göre değişimleri.

## TABLÖLAR DİZİNİ

**Tablo 2.1.** Sağlam Endotelin Özellikleri

**Tablo 2.2.** Endotelden Salınan Mediyatörler

**Tablo 2.3.** NO salınımına yol açan nedenler

**Tablo 4.1.** Enerji içeceği öncesi ve sonrası SKB,DKB ve kalp hızı değerleri

**Tablo 4.2.** Enerji içeceği öncesi ve sonrası sayısal ölçümler ve p değerleri

## 1.GİRİŞ

Günümüzde özellikle genç nüfusta enerji ieeği kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (1). Herhangi bir kısıtlamaya tabi olmayan ve piyasada kolaylıkla bulunabilen bu içeceklerin sağlık üzerine etkileri tam bilinmemektedir. İçerdikleri yüksek miktardaki kafeinle dikkat çeken bu içecekler dayanıklılığı, fiziksel ve mental performansı artırdıkları iddiasıyla satışa sunulmaktadır. Enerji içeceklerinde temel içerik olan yapay kafein, şeker , taurin ve glukuronolaktonun yanı sıra inositol, vitaminler (niasin,pantotenik asit, B6,B12), aroma vericiler ve renklendiriciler (karamel,riboflavin) bulunmaktadır(2).

Kafein içerikli enerji içecekleri ile yapılan çalışmalar içerdikleri kafeine bağlı olarak kan basıncı ve kalp hızında artışa yol atıklarını göstermiştir (3, 4). Vasküler endotel, vasküler tonusu ayarlayan bir takım mediyatörler salgılayan geniş bir parakrin organdır. Endotel bir çok i ve dış uyaranı kabul ederek uygun yanıtlar vermek, pro- ve anti – infalamatuvar mediatörler salgılamak, prokoagülan ve antikoagülan etkinlik, vazomotor fonksiyonlar, hücresel besin dengesi, yeni kan damarlarının oluşması, programlanmış hücre ölümünün düzenlenmesi gibi bir takım fonksiyonlara sahiptir (5, 6).

Endotel disfonksiyonu ateroskleroz, hipertansiyon, diyabet gibi hastalıkların patofizyolojisinde rol oynar. Endotel disfonksiyonu daha aterosklerotik morfolojik değişiklikler oluşmadan ortaya çıkar ve lezyon gelişimine ya da klinik komplikasyonlara neden olabilir (7). Aterosklerozun geniş yaşlarda başladığı ve uzun süre sessiz olarak ilerlediği düşünülürse, geniş yaşlarda endotel disfonksiyonuna sebep olan faktörlerin subklinik aterosklerozun başladığı bu yaşlarda endotel fonksiyonlarını bozarak ileri yaşlarda klinik ateroskleroza yol açma olasılığı yüksektir. Enerji ieeği kullanımına bağlı aritmi bildirimleri nedeniyle enerji ieeği kullanımının kalp ritmi üzerine etkileri araştırılmıştır ancak kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde çok önemli rol oynayan endotel fonksiyonları üzerine etkilerini araştıran fazla çalışma yoktur ve sonuçları çelişkilidir. Daha önce yapılan bir araştırmada enerji içeceklerinin akut dönemde trombosit fonksiyonlarını ve

arteriyel tonometri ile değerlendirilen endotel fonksiyonlarını bozduğu görülmüştür (8). Grasser ve arkadaşları ise iyontofrez ve lazer akım Doppler ile mikrovasküler endotel fonksiyonu üzerine etkilerini değerlendirmiş ve enerji içeceği ile asetilkolin aracılı vazodilatasyonda artış olduğunu göstermiştir (9). Bu araştırmaların hiçbirinde endotel fonksiyon değerlendirme yöntemi olarak akım aracılı vazodilatasyon kullanılmamıştır.

Akım aracılı vazodilatasyon (AAV-flow mediated dilation ) endotel fonksiyonlarının indirekt olarak değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Noninvaziv ve tekrarlanabilir olması nedeniyle son yıllarda araştırma amaçlı olarak sık kullanılmaktadır ancak rutin klinik pratiğe girememiştir.

Çalışmamızın amacı herkese açık , gıda ve içecek satış merkezlerinden herhangi bir kontrole tabi tutulmadan alınabilen enerji içeceklerinin endotel fonksiyonuna akut etkisini araştırmaktır. Bu çalışma tek merkezli, kesitsel girişimsel olmayan bir araştırma olarak düzenlenmiştir. Enerji içeceklerinin ateroskleroz, hipertansiyon, diabetes mellitus gibi sık görülen hastalıkların patofizyolojisinde rol oynayan endotel fonksiyonları üzerine olumsuz bir etkisi olup olmadığının bilinmesi toplum sağlığı açısından da önem taşımaktadır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Enerji içecekleri

Son yıllarda çıkan ölüm haberleriyle popülaritesi tehlikeye giren ancak hızlı bir şekilde geri dönen enerji içecekleri başta adolesanlar ve gençler olmak üzere toplumda yaygın olarak tüketilmektedir (1). Piyasaya fiziksel ve bilişsel performansı, konsantrasyon ve dayanıklılığı artırdıkları iddiasıyla sürülmüşlerdir. Avrupada ilk kez kullanıldıkları 1987 yılından itibaren kullanımları giderek daha da yaygınlaşmıştır. Bazı enerji içecekleri özellikle atletler için üretilmiştir, ama çoğu genel kullanıma yöneliktir. Temel olarak değişen miktarlarda sentetik kafein içermektedirler. Ancak bir kısım enerji içeceğinde guarana tohumu denilen ve yüksek oranda kafein içeren bir bitki ekstresi mevcuttur ve buradan gelen kafein doğal ürün olarak kabul edilerek içerik olarak hesaplamalara katılmamaktadır. Kafeine ek olarak taurin, glukoronolakton, B grubu vitaminler, inositol gibi maddeleri de ihtiva etmektedirler(2).

Piyasaya çıkan bazı yeni ürünler, haşhaş tohumu özü, ginseng veya efedrin gibi stimulanları da içerebilmektedir. Kanada verilerine göre adolesanların %30 kadarı enerji içeceği tüketmektedir (10). Büyüme hormonunun etkisi ile kafein metabolizmasının yavaşladığı bu yaşlarda istenmeyen etkilere yatkınlık daha fazladır. Enerji içeceği tüketenler arasında yapılan araştırmalarda içecekleri tüketmekteki 3 ana neden 1) uyanıklığı artırmak 2) akran baskısı 3) spor performansını artırmak olarak sıralanmıştır. Gençler hem reklamların hem de akranlarının etkisinde kalarak olası yan etkiler konusunda bilinçlendirilmediklerinden enerji içeceklerini tüketmektedirler. Enerji içeceklerine bağlı istenmeyen etkilerin büyük bir kısmı kafein nedeni ile ortaya çıkmaktadır. Kafeine bağlı etkilerin yanı sıra bu içeceklerin özellikle alkol ile karıştırılarak kullanımında uyarıcı etkileri nedeni ile alkolün depresan etkilerinin maskelenebileceği ve bireylerin alkol intoksikasyonlarının farkına varamayabilecekleri öne sürülmektedir(11).

Dünya genelinde enerji içeceklerinin kafein içerikleri değişkendir. Dünyada en sık tüketilen doz litrede 300 mg olmakla beraber bazı markalar litrede 1000

mg kafeine kadar içerebilmektedir. Ülkemizde ise enerji içeceklerinin kafein içeriği 26309 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Enerji İçecekleri Tebliği ile kısıtlanmıştır. Bu tebliğe göre enerji içeceklerinin kafein miktarı 150 mg/L ile sınırlanmıştır. Aynı tebliğe göre enerji içeceklerinin etiketinde tüketici tarafından kolaylıkla görülebilecek şekilde şu uyarı yer almalıdır; "Alkol ile karıştırılarak veya beraber tüketilmemelidir. Çocuklar, 18 yaş altı kişiler, yaşlılar, diabetikler, yüksek tansiyonu olanlar, gebe ve emzikli kadınlar, metabolik hastalığı olanlar, böbrek yetmezliği olanlar ile kafeine hassas kişiler için tavsiye edilmez. Sporcu içeceği değildir, yoğun fiziksel aktivite sırasında veya sonrasında tüketilmemelidir. Günlük 500 ml'den fazla tüketilmesi tavsiye edilmez."

### **Kafein**

Kafein matein ve ya guaranın adı ile de bilinen acı , beyaz kristal seklinde ksantin alkaloit olan uyarıcı bir maddedir. Bazı bitkilerin tohum, yaprak ya da meyveleri içinde değişen miktarda bulunur. En sık kahve bitkisinin tohumunda ve çay bitkisinin yapraklarında bulunur. Diğer kaynaklar Yerba mate, guarana çilek ,guayusa ve kutsal yaupon bitkileridir.

İnsanlarda kafein geçici uyanıklık yaratır ve merkezi sinir sistemi uyarıcısı olarak etki gösterir. Dünyanın en yaygın ve hemen hemen her yerinde yasal ve düzenlemeye tabi tutulmadan olarak kullanılan psikoaktif maddesidir. Örneğin kuzey Amerika'da yetişkinlerin %90'ı her gün kafein içeren yiyecek ve içecekler tüketmektedir(12).

Santral sinir sistemi stimülasyonunun yanı sıra yağ dokusundan serbest yağ asidi salınımını sağlar, metabolizma hızını ve enerji tüketimini artırır ayrıca diürete neden olur. Kafein yapı olarak adenosin molekülüne benzer ve santral sinir sistemi, solunum sistemi, böbrek, gastrointestinal sistem ve kardiyovasküler sistemlerde yaygın olarak bulunur (13). Günlük ortalama bir kahve tüketim ile sağlanan plazma konsantrasyonlarında adenosin A1/A2A reseptörlerine zayıf olarak bağlanır ve merkezi sinir sisteminde asetilkolin reseptörleri aracılığı ile stimülasyon sağlar. Daha yüksek dozlarda ise fosfodiesteraz inhibisyonu, iskelet kası, kalp ve nöronlarda hücre içi kalsiyum

mobilizasyonu gibi mekanizmalara bağlı olarak farklı etkiler ortaya çıkabilir (14).

Kafeinin vasküler doku üzerinde etkileri değişkendir. Endotel hücrelerinde hücre içi kalsiyum artışı ve nitrik oksit yapımını artırır ve vazodilatasyona yol açar (15). Ancak vasküler düz kas hücreleri üzerinde fosfodiesteraz inhibisyonu ve adenzin reseptör blokajı nedeni ile vazokonstriktör etkisi vardır. Buna bağlı olarak akut tüketimde net etki kan basıncında artışı olarak kendini gösterir. Endotel fonksiyonları üzerine yapılan araştırmalarda kafeinli kahve tüketimi ile endotel fonksiyonları bozulurken(16) kafeinsiz kahve endotel fonksiyonlarını olumlu yönde etkilemektedir(17).Bu bulgular kahve içinde bulunan kolojenik asitler gibi antioksidanların endotel fonksiyonunu olumlu etkilediği ancak kafeinin olumsuz etkilerinin bu etkileri ntrlediği şeklinde yorumlanabilir. Bir çalışmada saf kafein tabletleri alımı sonrası egzersiz sırasında miyokard kan akımının bozduğu gösterilmiştir(18). Bir diğer çalışmada ise hipertansiyonu olmayan geç bireylerde istirahat halinde kafein alımı sonrası sistolik kan basıncı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur, buna karşın direnç egzersizi sonrası sistolik kan basıncı ve ortalama kan basıncında azalma saptanmıştır(19).

Toksik kafein dozu ortalama bir yetişkin için 10 gram olarak belirlenmiş, güvenli olarak kullanılabilir miktar günlük 200 miligramdan az olarak kabul edilmiştir(20). Özellikle kahve şeklinde kafein tüketimi antioksidan etkilerinden dolayı bazı kanser tipleri, Parkinson hastalığı gibi bazı hastalıklara karşı hafif koruyucu etkiye de sahip olabilir(21). Buna karşın uzun vadeli ve aşırı miktarda tüketimi kalp ve damar hastalıkları açısından sağlık riskleri taşıyabilir. Enerji içeceği şeklinde aşırı kafein tüketime bağlanan koroner vazospazm ve kardiyak arrest(22) ya da fatal aritmiler(23) vaka sunumları halinde bildirilmiştir. Hayvan deneyleri kafeinin proaritmik etkilerini gösterse de genel olarak bu etkiye neden olan dozlar gündelik kullanımda tüketilen dozlardan çok daha fazladır(24). Ancak enerji içeceklerinin bir kısmının oldukça yüksek konsantrasyonda kafein içerebileceği akılda tutulmalıdır. Bazı insanlarda özellikle akşam tüketildiğinde uyku bozukluğu yapabilir, fakat uyku üzerine kafeinin etkisi oldukça değişkendir.

Enerji içeceklerine bağlı yan etkilerin çoğu kafeinin semptomimetik etkileri nedeni ile görülmektedir. Kafeinin bilinen yan etkileri arasında uykusuzluk, baş ağrısı, sinirlilik, bulantı, kusma, kardiyak aritmiler, hipertansiyon, halüsinasyonlar, deliryum hatta ölüm sayılabilir. Kafeinin sadece tüketimi değil çekilmesi de istenmeyen etkilere yol açabilir.

### **Taurin**

Taurin hayvan dokularında yaygın olarak bulunan bir organik asittir(25). Safranın önemli bileşenidir ve kalın barsaklarda safra asidi konjugasyonu, antioksidasyon, osmotik düzenleme, membran stabilizasyonu ,kalsium sinyal modülasyonu gibi birçok temel biyolojik rolü vardır(26).

İskelet kaslarının gelişmesi, kardiyovasküler sistemin normal fonksiyon görmesi, retina fonksiyonu ve merkezi sinir sistemi gelişimi için gereklidir. İnsanlarda taurin çoğunlukla ekzojen olarak alınır ve çok küçük bir kısım karaciğerde sentezlenir. Taurin kullanımının sağlık üzerine herhangi bir olumsuz etkisi bildirilmemiştir. Taurinin norepinefrin ya da anjiyotensin 2 düşüşüne sebep olarak kan basıncını düşürebileceği ve bu sayede kafeinin kan basıncı üzerine olan olumsuz etkisini bir miktar düzeltebileceği düşünülmektedir(27). Taurin HepG2 hücrelerinde apolipoprotein B100(VLDL ve LDL nin temel yapısal bileşeni) salgılanmasını azaltarak, serum lipidlerini düşürür. Bu nedenle ateroskleroz ve koroner kalp hastalıklarının önlenmesinde muhtemelen yararlıdır(28, 29).

Yüksek taurin dozlarının etkisi belirsizdir. Ülkemizdeki enerji içeceklerinin taurin içeriği 800 mg/l ile sınırlanmıştır

### **Glukuronolakton**

İnsanlarda askorbik asit sentezi için bir ön madde olarak kullanılabilir(30).

B-glukuronidaz karaciğerde morfin, depo medroksiprogesteron asetat gibi toksik maddelere birleşerek glukuronidler şeklinde atılmasına sebep olarak detoksikant olarak görev yapar(31). Bu etkilerinden dolayı enerji içeceklerinde kullanılarak toksik maddelerin atılmasına yardım ettiği iddia edilir.

## **2.2. Endotel**

Endotel hücreleri tüm lenf ve kan damarlarının iç yüzeyini örter ve biyolojik olarak aktif bir bariyer oluşturur. Yetişkin insan vücudunda 100gr ağırlığında ve 3000 m2 yüzey alanını kaplayan en az bir trilyon endotel hücresi bulunur(32, 33). Diğer bütün organlarla dinamik bir ilişki içindedir. Kan ile arter ve venlerin trombojenik potansiyele sahip subendotelyal dokuları arasında astar görevi görür. Sağlam endotelin özellikleri ve endotelden salınan mediyatörler Tablo 2.1. ve Tablo 2.2 de özetlenmiştir.

### **Tablo 2.1. Sağlam Endotelin Özellikleri**

- 1-Vazomotor tonusu regüle eder
- 2-Nontrombojenik yüzey oluşturur ve tromboz/fibrinoliz regülasyonu sağlar
- 3-Vasküler hücre büyümesini regüle eder
- 4-Lökosit ve trombosit adezyonunu regüle eder
- 5-Lipid oksidasyonunu düzenler
- 6-Seçici geçirgen bir bariyer oluşturur
- 7-Trombojenik cevabı düzenler

### **Tablo 2.2. Endotelden Salınan Mediyatörler**

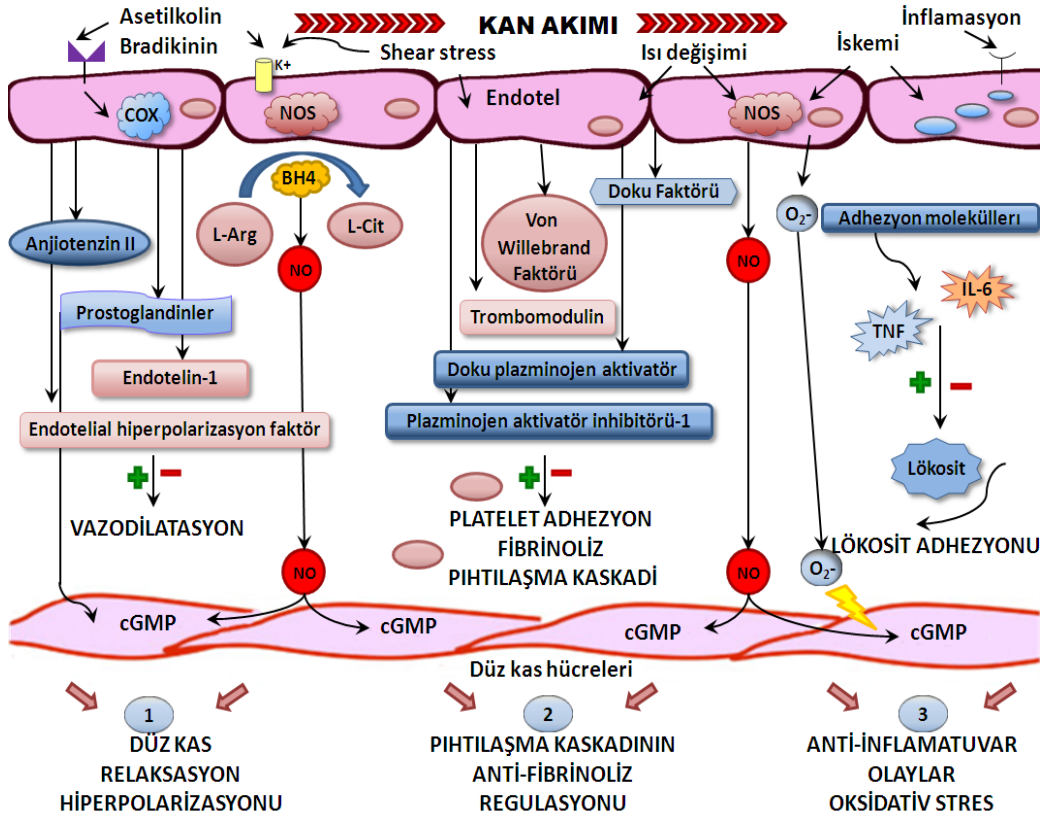
#### **Vazodilatör mediyatörler**

- Adenozin
- Nitrik Oksit
- Prostasiklin (PGI<sub>2</sub>)
- Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EKHF)

#### **Vazokonstriktör mediyatörler**

- Endotelin-1 (ET-1)
- Anjiyotensin II
- Platelet Aktive Edici Faktör (PAF)

Endotel bir çok iç ve dış uyararı kabul ederek uygun yanıtlar vermek, pro-ve anti – inflamatuvar mediyatörler salgılamak, prokoagulan ve antikoagulan etkinlik, vazomotor fonksiyonlar, hücrel besin dengesi, yeni kan damarlarının oluşması, programlanmış hücre ölümünün düzenlenmesi gibi bir takım fonksiyonlara sahiptir(5)(Şekil 2.1.).



**Şekil 2.1.** Endotelin bir takım uyarılara yanıt olarak salgıladığı mediyatörler ve etkileri *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(16):1455-1469. 'dan modifiye edilmiştir.

Endotel heterojen özelliğe sahip olup hücreleri onu çevreleyen dokulardan gelen sinyalleri alma ve yanıt verme özelliğine sahiptir. Çözünür mediyatörler, hemodinamik kuvvetler , sıcaklık, PH ve oksijenlenme değişimleri gibi fiziksel ve hormonal uyarılara yanıt olarak vazomotor tonus, vasküler geçirgenlik, hemostatik denge ve inflamatuvar sinyaller düzenlenir ve hücre sağkalımı ve çoğalması sağlanır. Farklı dokularda endotel farklı özellik

gösterebilir. Örneğin merkezi sinir sisteminde kan-beyin bariyerini oluşturan sıkı bağlantılara sahipken endokrin bezleri ve böbrek glomerülünde hormon salgılanması ve plazma filtrasyonuna izin vermesi için transsellüler gözenekleri içeren ( fenestre ) yapıdadır(34).

### **2.2.1.Nitrik Oksit Üretimi**

Vazomotor fonksiyonlar endotel bağımlı ve bağımsız mekanizmaların bir kombinasyonu olarak düzenlenir. Endotel hücreleri arteriollerin tonusunu düzenlemek ve kan basıncı kontrolüne katkıda bulunmak amacı ile vazodilatör molekülür üretir. Bu faktörler vazodilatörleri (NO; Prostaglandin vb.) ve vazokonstriktörleri (endotelin, tromboksan A2 ve trombosit aktive edici faktör) içerir.

Endotelden salınan en güçlü ve önemli vazodilatör mediyatörlerden biri nitrik oksit (NO) dir. İlk olarak 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki(34), tavşan aortasında asetilkoline bağıli gevşemenin ancak sağlam damar endotel hücrelerinin varlığında gerçekleşebileceğini gösterdiler. Endotele bağıli gevşemeye yol açan bu potent vazodilatöre ilk başta endotelden salınan gevşetici faktör (EDRF) adı verildi. EDRF nin endotelden salgılandıktan sonra aşağısındaki düz kas hücrelerine ulaşarak asetilkoline bağıli gevşemeyi sağladığı, endotel devamlılığı bozulduğunda ise asetilkoline bağıli vazodilatasyonun yetersiz kaldığı gösterildi. Daha sonraki yıllarda Furchgott ve Ignarro (35) ayrı ayrı EDRF nin nitrik oksit olabileceğini ileri sürdüler. Son olarak Palmer (36) ve ark. EDRF ve nitrik oksidin benzer farmakolojik yapıda olduğunu gösterdiler.

Endotele ait özelliklerinin birçoğu nitrik oksit (NO) molekülü aracılığı ile ortaya çıkmaktadır. NO endotel hücreleri üzerinde vasküler tonusu azaltarak vazodilatasyona sebep olan güçlü bir vazodilatatördür. Endotelden salınan NO yarı esansiyel bir aminoasit olan L-arjinin'den endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığıyla sentezlenir(32). Nitrik oksit daha sonra damar düz kaslarına geçerek hücre içi guanilat siklaz enzimine bağlanır ve bu enzimi aktive ederek siklik guanozin monofosfat (cGMP) yapımını artırır. Sarkoplazmik retikulumda cGMP kalsiyum konsantrasyonu azaltarak düz kasta

gevşemeye neden olur. Normal şartlarda endotelden hem nitrik oksit ve prostasiklin gibi vazodilatatörler, hem de endotelin ve endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) gibi vazokonstriktör maddeler salınmaktadır. Damar tonusu bu faktörlerin ve sempatik sinir sisteminin dengesine bağlıdır(37). Endotelden NO sentezine yol açan başlıca uyarı kan akımının neden olduğu makaslama gerilmesidir (shear stress). Akım hızındaki artış (shear stress) iyon kanallarını (kalsiyum, potasyum ve sodyum) etkileyerek endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimini aktive eder ve endotel hücrelerinden nitrik oksit sentezini uyarır (Tablo2.3). Kan damarları akım hızındaki artışa (shear stress) yanıt olarak dilate olurlar, bu durum akım aracılı vazodilatasyon (AAV) olarak adlandırılır. Egzersiz, asidoz, hipoksi, basınç artışı ve gerilme ise endotelden NO'nun açığa çıkmasını azaltır. Nitrik oksidin azalması veya kaybı ateroskleroz için zemin hazırlar(38, 39) .

### **Tablo 2.3. NO salınımına yol açan nedenler**

---

Nörotransmitterler (asetilkolin ve noradrenalin)

Trombositlerden salınan maddeler (serotonin, adenozin difosfat)

Koagülasyon sırasında oluşan maddeler (trombin)

Damar duvarında oluşan otakoidler (histamin, bradikinin ve endotelin)

Pulsatil stres ve akımın shear stresi

### **Anormal nitrik oksit metabolizmasının olası sebepleri:**

- NO sentez kofaktörü tetrahidrobiopterin( sepiapterinden sentezlenir) azalması (40).
- Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) düzeyleri NO sentezinin endojen inhibitörüdür, ve NO azalmasına katkıda bulunabilir (5, 6, 33). Okside LDL endotel hücreleri tarafından ADMA'nın hazırlanmasını artırır (5). Yüksek ADMA düzeyleri koroner kalp hastalığı ve koroner olaylar için bir risk faktörüdür (5, 41).

- Yüksek kolesterol düzeyleri endotelde serbest oksijen radikallerinin üretimini artırarak L -arginin azalmasına neden olur ve NO sentaz aktivitesini azaltarak NO seviyelerini azaltır(42).
- Koroner kalp hastalığı olan hastalarda damar duvarının önemli bir antioksidan enzim sistemi olan süperoksit dismutaz aktivitesinde azalma serbest radikallerin artışı ile sonuçlanır(43).
- Kalp yetmezliği hastalarında transsellüler L-arginin transportunda azalma(44).

### **2.2.2.Endotel Disfonksiyonu**

Sağlam damar endoteli farklı vasküler yataklarda bütünlük içinde sürekli değişen yarı geçirgen bir bariyer oluşturur. Sepsis gibi bir endoteliopati durumunda bariyer fonksiyonunun bozulmasına bağlı olarak doku ödemi ve ekstrasvazyona neden olacak şekilde artan geçirgenlik görülür. Endotelden salgılanan çeşitli ajanlar bu fenomene katkıda bulunur:

-Tümör nekroz faktörü (TNF) alfa,gerek in vitro ve in vivo geçirgenlikte artışa neden olur

-Vasküler endotelyal büyüme faktörü(VEGF) ise anjiogenezi tetikler

Endotel disfonksiyonu endotel hücrelerinde Nitrik Oksit (NO) salınımında azalma, yıkımının artması veya vazokonstrüktör mediyatörlerin salınımının artışı sonucu endotele bağlı vazodilatasyonun bozulmasıdır. Oksidatif strese bozukluk nedeniyle endotel hücreleri fonksiyonel ve geri dönüşümlü olarak değişime uğrar(45). Endotel disfonksiyonu geliştiğinde tek sıra dizili endotel hücrelerinin seçici geçirgen özelliği ve antitrombotik yüzey özelliği bozulur. Disfonksiyone aktive olmuş endotel hücrelerinden adhezyon molekülleri, sitokinler (IL-1, TNF- $\alpha$ ), kemokinler (MCP-1, IL-8) ve büyüme faktörleri (PDGF, FGF) salgılanır.

Klinik olarak aterosklerotik kalp hastalığı, diyabetes mellitus, hipertansiyon gibi durumların patogenezinde önemli rol oynayan endotel disfonksiyonu ile aşikar klinik bulgular izlenmeyen çeşitli durumlarda da karşılaşılabılır:

- Erken koroner hastalığı için aile öyküsü olan asemptomatik yetişkinler(45)
- Hafif ve orta düzeyde hipertrigliseridemi olan bireyler(46)

- Hiperkolesterolemisi olan veya olmayan sigara içicileri
- Normal ve ya minimal koroner hastalığı olarak kilolu olan ( vücut kitle indeksi 25-30) ya da obez ( vücut kitle indeksi >30) bireyler(47)
- Hiperinsulinemi ve insülin direnci ( bozukluk derecesi kötü glisemik indeksle ilişkili bulunmuştur, otonomik disfonksiyon vasküler reaktivitenin önemli belirleyicisi ola bilir.)(48, 49)
- Tip 2 diyabet hastalarının birinci dereceli akrabaları(50) ve insülin bağımlı diyabet hastaları(51, 52) Bu hastalarda otonomik disfonksiyon ve bozulmuş neurotransmisyon vasküler reaktivitenin önemli belirleyicileridir(53).
- Normal koroner arterler varlığında angina pectoris ( sendrom X)(54)
- İleri yaş (55).
- Günlük yaşamda meydana gelen zihinsel stres başka risk faktörü olmayan genç hastalarda geçici endotel işlev bozukluğuna neden olabilir(56, 57).

### **Aterosklerozda Endotel Disfonksiyonu**

Dislipidemi, sigara ya da diğer risk faktörlerinin neden olduğu endotel disfonksiyonu ateroskleroz gelişiminin ilk basamağıdır(58). Normal ya da minimal hastalıklı koroner damarları olan ve koroner arter hastalığı aile öyküsü olan kişilerde endotel disfonksiyonu ve mikrodolaşım bozukluklarını öngörmek mümkündür(59). Koroner kalp hastalığı olan genç hastalarda yapılan bir çalışmada endotel disfonksiyonunun ateroskleroz ile sınırlı olmayan çevresel faktörleri de içeren dağınık bir süreç olduğu yorumlanmıştır(60).

Endotel disfonksiyonunda temel sorun NO aracılı mekanizmaların susup, serbest oksijen radikallerinin baskın hale gelmesidir. Serbest oksijen radikalleri de nitrik oksit gibi kolayca difüzyon ile hücrelere ulaşır ve proteinler ile etkileşebilir. Normalde adaptif bir mekanizma olan serbest radikal oluşumu bazı durumlarda organizmanın antioksidan üretme kapasitesini aşar ve sürekli endotel aktivasyonuna bağlı olarak vasküler hasar oluşur. Endotel sadece fonksiyonlarını yitirmekle kalmaz bütünlüğünü de kaybeder(7). Hasarlı endotel tamirinde kemik iliği kaynaklı dolaşan endotel öncü hücrelerinin önemi büyüktür, ancak ateroskleroz risk faktörleri varlığında bu onarıcı mekanizma da devre dışı kalır. Sonuç olarak yüksek oksidatif stres ile ilişkili LDL

oksidasyonu sonucu monositlerin adezyonu ve subendotelial boşluğa göç ederek makrofajlara dönüşmesini ve orada köpük hücrelere dönüşmesi takip eder. Bu olaylar sırasında ortaya çıkan hücrel adezyon moleküllerinin plazma seviyeleri ve endotel disfonksiyonu arasında yakın bir ilişki olduğu görülmüştür(61).

Anormal nitrik oksit metabolizması –azalmış sentez ve daha az inhibisyon ile trombosit kümelenmesi endotel disfonksiyonuna önemli katkıda bulunur(62-64).

Bozulmuş NO sentezi doğrudan koroner iskemi gelişimini kolaylaştırır(62). Koroner anjiyografi çalışmalarında koroner hastalığı olan bireylerde asetilkolin ( endotel bağımlı vazodilatör) uygulaması sonrası nitrogliserin( endotel bağımsız vazodilatör) ile düzeltilebilen anormal vazokonstriksiyon olduğu gösterilmiştir(65, 66).

Akut koroner sendromlu ve primer perkütan koroner girişim öyküsü olan hastalarla yapılan bir çalışmada endotel disfonksiyonuna işaret eden azalmış dijital hiperemi yanıtının restenoz riski ile bağlı olduğu gösterilmiştir(67).

Koroner kalp hastalığı olan kişilerde C reaktif proteinin serum düzeyleri endotel disfonksiyonun bağımsız bir belirleyicisidir(68).

### **Hipertansiyonda endotel disfonksiyonu**

Arter duvarı üç tabakadan (intima-endotel, media, adventisya) oluşmaktadır. Bu katmanların her biri hipertansiyondan etkilenebilmektedir. İntravasküler basınç artışı ise arter duvarında hem fonksiyonel hem de yapısal değişikliklere yol açmaktadır(69). Endotelden salınan nitrik oksit vasküler devamlılığı da sağlamaktadır. Endotel fonksiyon bozukluğunda salınan vazodilatatör ile vazokonstrüktör faktörler arasındaki denge değişmiştir. Esansiyel hipertansiyonda endotele bağlı vazodilatasyon cevabının bozulması ve vazokonstrüktörlere olan hassasiyetin artması nedeniyle periferik damar direnci artabilmektedir. Hücreler arası bağlantıların bozulması sonucu artan hücre geçirgenliği, endotel yüzeyin hasarına ve düz kas hücrelerinin büyümesine neden olmaktadır. Arter duvarındaki katmanlarda meydana gelen

bu olumsuz yapısal değişiklikler hipertansif vakalarda görülen periferik direncin artışına neden olmaktadır(70).

Normal endotelde asetilkolin, vazodilatasyona neden olmaktadır. Endotel hasarında asetilkoline bağlı olan bu fizyolojik aktivite tersine döner. Endotel disfonksiyonunda vazodilatatör uyarı vazokonstriktör uyarıya dönuşür. Hipertansiyonda endotel disfonksiyonu sonucunda hemodinamik strese cevap olarak üretilen ve vazodilatasyona neden olan NO'in salınımı azalırken anjiyotensin dönüştürücü enzim ve güçlü vazokonstriktör olan ET-1 yapımı artmaktadır. Vasküler dokuda yüksek konsantrasyona ulaşan anjiotensin II; VCAM 1 ve ICAM 1 ile bazı sitokinlerin miktarının artmasına ve bu sitokinlerin hücre içine akışına neden olur.

Hipertansif hastalarda endotel disfonksiyonu sonucunda artan serbest oksijen radikalleri NO'nun damar duvarı üzerindeki yararlı ve koruyucu etkilerini ortadan kaldırır(71). Disfonksiyone endotel, normal endotele göre daha fazla miktarda süperoksid üretir(72). NO ve süperoksidin tepkimeye girerek oluşturdukları NO<sub>3</sub>'ün ortamdan proton kazanıp peroksinitröz aside dönüşmesi ile NO kaybı ve oksidatif strete artış meydana gelir. Bunun sonucu olarak lipid peroksidasyonu, oksidatif nitratlanma hasarı, sitoksite, DNA hasarı ve enzim inaktivasyonu gerçekleşir. Endotel disfonksiyonunun kan basıncı üzerine olan olumsuz etkileri sadece hipertansiyon gelişimi ile sınırlı kalmaz, hipertansiyon sonucu oluşan organ hasarların başlamasında da tetikleyici bir rol oynar(73).

Endotelden sentezlenen vazokonstriktif maddeler nitrik oksidin tanımlanmasından kısa bir süre sonra endotel hücre kültürlerinden vazokonstriktör maddeler de elde edildi. Bu maddelerden endotelin en güçlü vazokonstriktördür. Endotelinin üç izoformu arasında endotelden sadece endotelin-1 (ET-1) salınır ve diğerlerine göre en güçlü etkiye sahiptir. Endotelin A reseptörleri daha çok damar düz kaslarında bulunurken düz kas proliferasyonu ve vazokonstrüksiyonu sağlar(74, 75). ET-1 endotelial hücrelerde ET-B reseptörlerini aktive ederek bir vazodilatatör olarak da etki eder ve prostasiklin ve NO salınımına neden olur. ET-1'in insan hipertansiyonun patofizyolojisindeki ve normotansif kişilerde damar tonüsünün

kontrolündeki rolü aktif olarak araştırılmaktadır ve ön göstergeler böyle bir yolun varlığını desteklemektedir. Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda güçlü bir vazokonstrüktör olan endotelin-1'e karşı artmış venokonstrüksiyon söz konusudur. Ayrıca hipoksi, glukoz, hiperkolesterolemi, kortizol ve anjiyotensin II de endotelin salınımını arttırmaktadırlar (76).

## Tip 2 Diabetes Mellitus ve endotel disfonksiyonu

Tip2 diyabet hastalığında da endotel disfonksiyonu belirgin şekilde ortaya çıkmaktadır(77, 78). (Şekil 2.2.)



[Rev Diabet Stud. 2013 Summer-Fall; 10\(2-3\): 133–156.](#) Published online Aug 10, 2013. 'ten modifiye edilmiştir.

### Şekil 2.2. Diabetes mellitusta endotel disfonksiyonu nedenleri

Dolaşımda artan biyobelirteçler endotel hücre hasarına neden olarak inflamasyon aktivasyonunu tetikler: Bu biyobelirteçler arasında solübl adhezyon molekülü olan E selektin, vasküler hücre adhezyon molekülü (VCAM), ve interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM) sayılabilir(79-82). Benzer şekilde von Willebrand factor(vWF) düzeyleri endotel hücre hasarı

göstergesi olarak yüksek seyreder. Diyabet hastalarında mikroalbuminüri endotel hasarının bağımsız bir göstergesi olabilir(79, 83).

Diyabet hastalarında oksidatif stres arttığından eNOS için gerekli olan tetrahidrobiopterin(BH4) ve NADPH azalması sonucu NO sentezinde azalma oluşur(84, 85).

### **2.3.Endotel Fonksiyonlarının değerlendirilmesi**

Endotel fonksiyonu tanısında altın standart kabul edilebilecek tetkik vasküler yapıya invazif olarak asetilkolin verilerek vazodilatasyonun ölçülmesi ile yapılır. Neyse ki vasküler fizyolojinin anlaşılması sayesinde endotel aktivasyonunun non-invazif olarak değerlendirilmesi mümkün olmuştur. Bunun için kullanılacak olan testin kolay, güvenilir, tutarlı ve düşük maliyetli olması gerekmektedir. Henüz bütün bu özellikleri bir arada sağlayan tek bir test yoktur. Endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılabilecek testlerin bir kısmı dolaşımda endotel disfonksiyonunun belirteçlerinin ölçülmesine dayanır. Asimetrik dimetil arginin, P-selektin, V-CAM, I-CAM gibi endotel aktivasyon belirteçleri ya da sekonder prokoagülan aktivasyonu gösterebilecek olan doku plazminojen aktivatörü/ plazminojen aktivatör inhibitörü 1 gibi belirteçlerin ölçümü yol gösterici olabilir ancak çoğunlukla bu moleküller birden çok kaynak tarafından oluşturuldukları için yorumlanmaları güçtür(7). Endotel hasarı sonucu dolaşıma karışan endotel hücreleri ya da endotel öncü hücrelerinin ölçümü ümit vaat etse de rutin klinik kullanıma girememiştir. Yine mikrovasküler düzeyde endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi için kullanılabilecek arteriel tonometri ya da lazer akım Doppler tetkikleri mevcuttur.

Günümüzde vasküler endotel fonksiyonunun noninvaziv değerlendirilmesinde en yaygın kullanılan yöntem brakial arterden ultrasonografi ile AAV ölçümüdür. Fakat bu değerlendirme noninvaziv ve kolay tekrarlanabilir olmasına karşın uzmanlık gerektirir ve yorumlara açıktır. Noninvaziv bir yöntem olarak AAV tekniği 1992 yılında Celermajer ve arkadaşları tarafından geliştirildi(86). Akım aracılı vazodilatasyonun koroner

arterlerde invazif olarak yapılan endotel fonksiyonu ölçümleri ile iyi korele olduğu gösterilmiştir(87).

AAV testi sırasında kolda ya da ön kolda kan akımı bir sfigmomanometre yardımı ile geçici olarak durdurulur. Akımın tekrar sağlanması ile akut kan akımında artış ve bunun sonucunda vazodilatasyon oluşur. Bu hiperemi laminar shear kuvvetinin damarın uzun aksına paralel şekilde endotelin mekanoreseptörlerini uyarması sonucu oluşur(88). Bu olay eNOS aktivitesini arttırarak L-argininden NO sentezine neden olur(89). NO tunika mediaya diffüze olarak çözünebilir guanilat siklazı aktive ederek düz kasların gevşemesine neden olarak vazodilatasyona neden olur. Bu da reaktif hiperemi sonucunda arter çaplarında artmaya neden olur. Akım aracılı vazodilatasyon ölçümünde sayısal değerlendirme hiperemi sonrası arter çapının bazal çapa göre olan yüzde değişikliği (%AAV) hesaplanarak yapılır.

AAV tekniği tekrarlanabilir ve noninvaziv bir test olmasına karşın bir çok subjektif durumlardan etkilenebilir:

- Vitamin takviyesi: in vivo antioksidan dengesi vasküler endotel fonksiyonunda önemli rol oynar, oral antioksidan takviyesi sonrası dolaşan serbest radikallerin indirgenmesine dair veriler vardır(90).
- Vitamin alındıktan en az 72 saat sonra AAV ölçümleri yapılması uygun görülür.
- İlaçlar: Bir çok ilaç doğrudan ya da dolaylı olarak vasküler yatağı etkiler. Bu yüzden AAV ölçümü için alınan ilacın son dozundan sonra en az dört yarılama ömrü beklenmesi gerekmektedir.
- Sigara kullanımı: Sigara endotelial fonksiyonu bozduğu bilinen(91) kardiovasküler hastalıkların modifiye edilebilir bir risk faktörüdür. AAV ölçümünden önceki 12 saat sigara içilmemesi gerekir.
- Kafein: Kafeinli kahvenin AAV'ı etkilediğine dair veriler mevcuttur. Ek olarak kafein NO aracılı vasküler dilatasyonunun bir aşaması olan solübl guanilatsiklazı inhibe eder. AAV ölçümünden 12 saat önce kafein içerikli yiyecek ve içeceklerin kesilmesi önerilir.

- Menstruel faz: Endogen estrojen ve progesteron üretiminin artmasının eNOS aktivitesini ve antioksidan kapasitesini arttırdığına dair bilgiler mevcuttur(92, 93). Bu nedenle premenopozal kadınlarda AAV ölçümlerinin menstrual siklusun benzer zamanlarında yapılması önerilir.
- Egzersiz sonrası / istirahat durumu: Sağlıklı yetişkinlerde(94), kilolu erkeklerde(VKİ>26), ve postmenopozal kadınlarda(95) yapılan çalışmalarda egzersizin AAVu artırdığına dair kanıtlar mevcut. Araştırmalarda AAV'den önceki 12 saat istirahat önerilir.
- Tokluk durumu:Yağlı ve yüksek karbonhidratlı yiyeceklerin sağlıklı kişilerde (96, 97)ve Tip 2 diyabet hastalarında AAV yanıtını azalttığına dair veriler mevcuttur. Bununla birlikte az yağlı yiyecekler(96, 97) AAV'yi etkilememektedir.
- Uygun ortam:Ölçümlerin aynı pozisyonda (supin, ayakta ve oturur vb.) ölçülmesi gerekir .Ortam sakın ve 22-24 santigrat derece ısıda olmalıdır.
- Tekrarlanan ölçümlerin diurnal varyasyondan etkilenmemesi için günün aynı saatlerinde yapılması önerilir(98).

AAV ölçümlerinde bir standardizasyon sağlayabilmek amacıyla Coretti ve ark. Tarafından 2002 yılında bir uygulama kılavuzu yayınlandı (99). 2005 yılında ise Deanfield ve ark.(100) endotel fonksiyonlarının non-invaziv değerlendirilmesi ile ilgili akıma bağımlı dilatasyon ölçüm tekniği ile ilgili öneriler de içeren bir bilgilendirme yayınladı. AAV ölçümlerinin gelecekteki kardiyovasküler olaylarla ilişkisi çeşitli prestektif çalışmalarda gösterilmiştir(101). Ayrıca yaklaşık 15000 kişinin dahil edildiği bir metaanalizde AAV değerinde %1 artış ile kardiyovasküler olay riskinin azaldığı görülmüştür (total risk 0.92 ; %95 güven aralığı 0,88-0,95)(102). Yakın zamanda yapılan AAV çalışmalarında AAV değerlerinin benzer shear oranlarında ölçülmesi gerektiği öne sürülmektedir. % AAV değerlerinin shear oranına bölünerek elde edilen normalize edilmiş AAV değerlerinin daha güvenilir olabileceği öne sürülmektedir(103). Fakat bu değişkenlerin

hesaplanması damar çapı ve akım hızı ölçümlerini kesintisiz olarak alabilmeyi sağlayan bir teknoloji gerektirir ve bu da her zaman mümkün olmayabilir.

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1.Araştırmaya Hasta Alımı

Çalışmaya 18 -50 yaş arası , bilinen kronik hastalık öyküsü olmayan, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalında görev yapmakta olan sağlıklı gönüllüler alınmıştır. Araştırmanın Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmasının ardından katılmayı kabul eden toplam 30 sağlıklı gönüllü Haziran 2014 ile Ağustos 2014 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi ekokardiyografi laboratuvarlarında akım aracılı vazodilatasyon ölçümü için incelemeye alındı. Tüm gönüllüler araştırmaya katılmak için yazılı onam verdiler.

Bireyler sigara kullanımı açısından sorgulanarak ağır sigara içiciler (günde 1 paket ve üstü) çalışmaya alınmadı. Gönüllüler daha önce ağır kafein tüketicisi olmayan bireylerden (günlük 200 mg ve altında) seçildi. Gönüllülerin ölçüm öncesinde en az 6 saattir aç olmaları incelemeden önceki 12 saat içinde kafein içeren içecekler ya da sigara tüketmemeleri istendi. Ölçümler alınmadan önceki 12 saat ağır egzersiz yapmamaları da önerildi. Tüm incelemeler saat 8:00 ile 17:00 arasında 22-24°C arasında oda sıcaklığında yarı karanlık sakin ortamda yapıldı.

#### Çalışmaya dahil olma kriterleri

- 18-50 yaş arası
- Önceden her hangi bir hastalığı olmayan, ilaç kullanmayan sağlıklı bireyler
- Günlük kafein tüketimi 200 miligramdan az olan bireyler
- Onam vermiş olmak

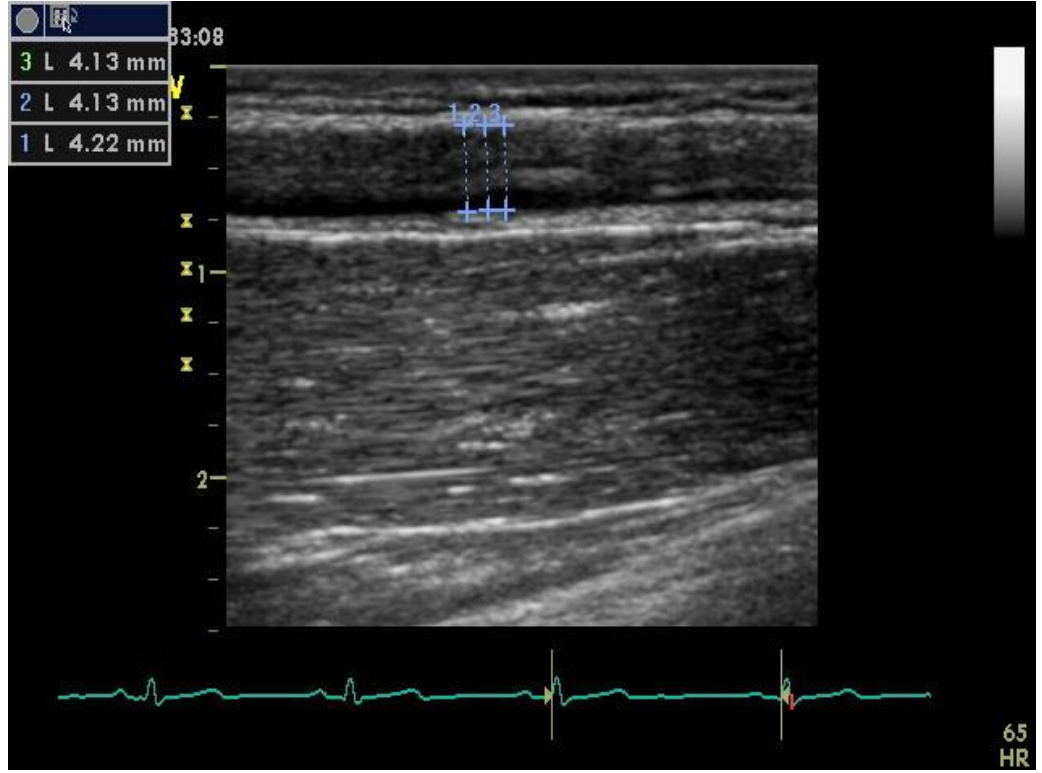
#### Çalışmadan dışlama kriterleri

- Son 12 saat içinde kafein içeren içeceklerin tüketilmesi
- Son 12 saat içinde sigara tüketilmesi
- Obez VKI(>31)

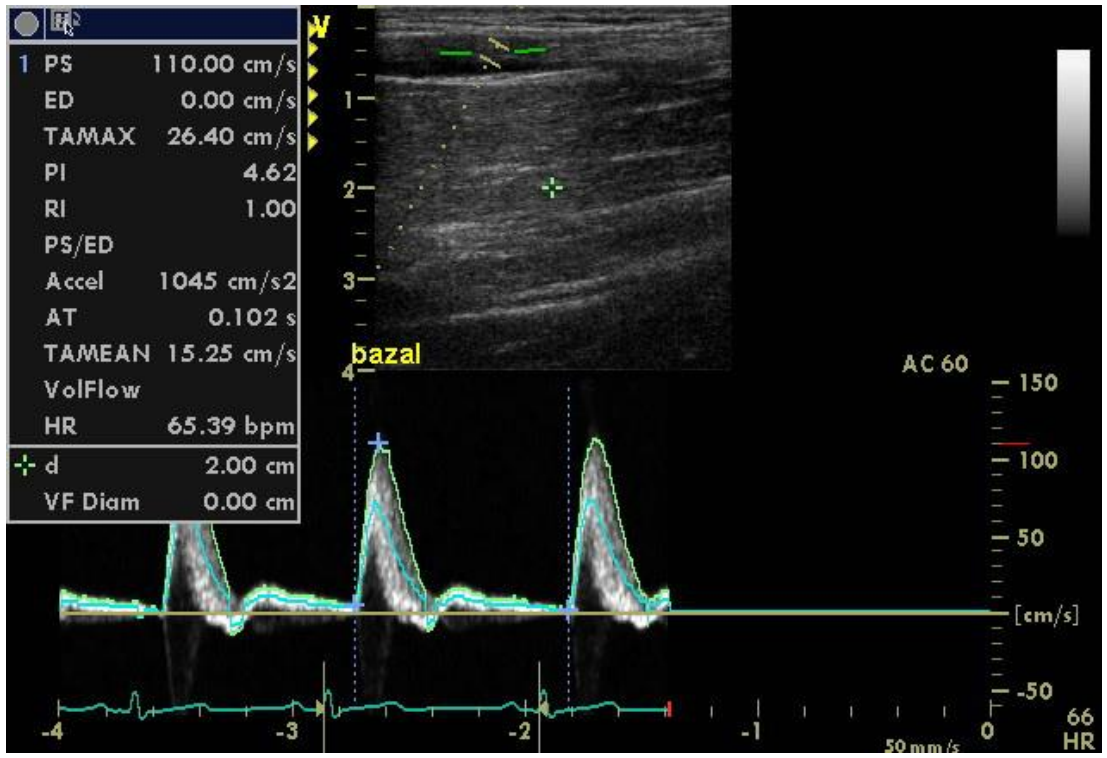
- Çok zayıf ve hipotansif, olan bireyler(VKI <20)
- Senkop hikayesi olan kişiler
- Onam vermemiş olmak

### **3.2. Akım Aracılı Vazodilatasyon Ölçümleri**

Sağlıklı gönüllüler uygun koşullar sağlandıktan sonra ekokardiyografi laboratuvarına alınıp onam formu okutularak imzalatıldı; demografik özellikleri kaydedildi. Ölçümler akım aracılı vazodilatasyon ölçümleri için hazırlanmış kılavuzlar ışığında aynı operatör tarafından kaydedilmiş görüntüler üzerinden gerçekleştirildi. Bireyler supin pozisyonda yatırılarak elektrokardiyografik monitorizasyon yapıldı, 10 dakika dinlendirildikten sonra inceleme yapılmayan koldan sfigmomanometre ile (ERKA.D-83646. PERFECT Aneroid range: 29-40cm , Almanya) ile kan basıncı ölçümleri ve kalp hızları alındı. Sonrasında sfigmomanometrenin manşonu ölçüm yapılan ön kolun tam ortasına gelecek şekilde yerleştirildi. Ekokardiyografi cihazının (Vivid 7,Wipro GE Healthcare,GE Medical systems Inc,Chicago,U.S.A.) 12 MHz lineer vasküler ultrasonografi transdüseri brakial arterin trasesine yerleştirilerek 2 boyutlu gri skala görüntülerle brakial arterin antekubital fossanın 5-6 cm yukarısında görüntüsü elde edildi .Mümkün olduğu kadar tortüozitenin ve kıvrımların olmadığı ve intimal tabakanın net görüntülediği pozisyonda cilt kalem ile işaretlendi etrafındaki anatomik yapılar not edildikten sonra damar çapı ve akım hızı için bazal ölçümler görüntüler kaydedilerek alındı. Tüm ölçümler EKG de R dalgasının tepesine gelecek şekilde yapıldı. Bazal damar çapı ölçümü için karşı damar duvarlarının intimaları görüntülenerek intimadan intimaya ölçümler alındı ve aynı görüntü üzerinden 3 ardışık ölçüm alınarak ortalaması alındı. Sonrasında PW Doppler aracılığı ile uygun örneklem genişliği seçilerek PW sample volüm damara paralel bir biçimde yerleştirildi ve akım hızı ölçümleri gerçekleştirildi (Şekil 3.1.;3.2.). Bazal ölçümlerin alınmasını takiben ön koldaki sfigmomanometriye ait manşon sistolik kan basıncının en az 50mmHg üzerine çıkacak şekilde şişirilerek 5 dakika beklenildi. 5. dakikanın sonunda manşonun havası boşaltılarak ilk 15 saniyede PW Doppler ile akım hızı alınarak kaydedildi (Şekil 3.3.)

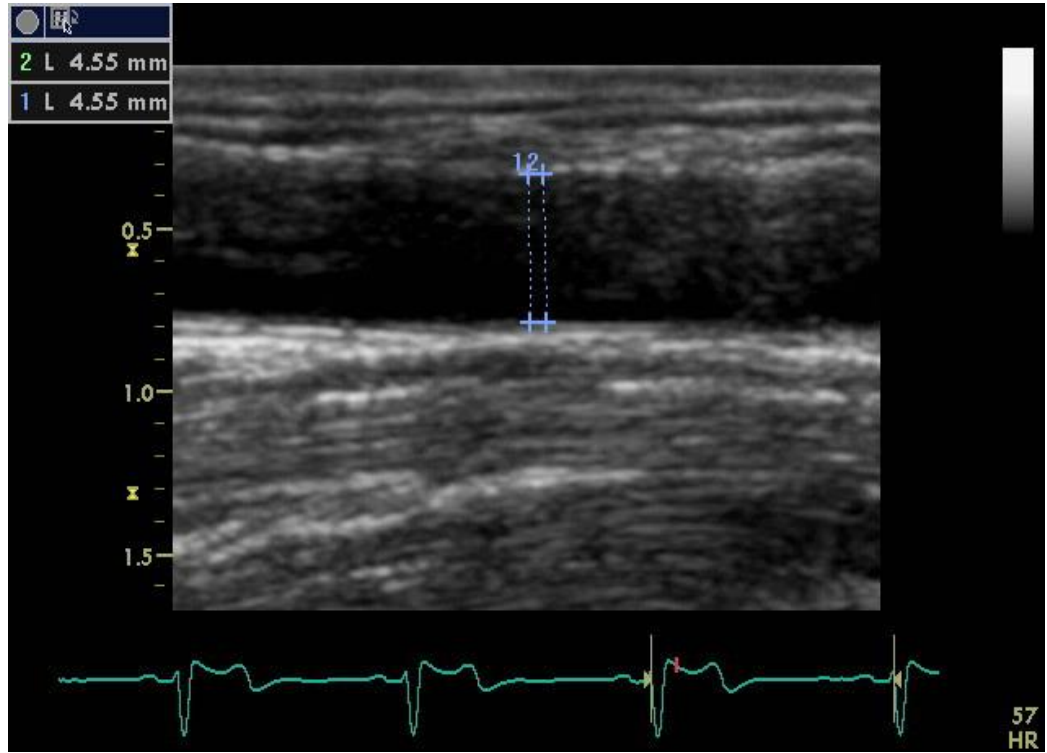


Şekil 3.1. Oklüzyon öncesi bazal arteriyel çap ölçümü



Şekil 3.2. Oklüzyon öncesi bazal akım hızının ölçümü

Hemen sonrasında 20. saniyeye denk gelecek şekilde 2 boyutlu gri skala üzerinden görüntüler kaydedilerek brakial arter çapları ölçüldü. Oklüzyon sonrası çap ölçümleri sırasıyla 75. ve 120. saniyede tekrarlandı. Bütün ölçümlerin aynı zamanlamada olmasına ve ardışık ölçümlerin ortalamasının alınmasına dikkat edildi (Şekil 3.3.).



**Şekil 3.3.** Oklüzyon kaldırıldıktan sonra 75.saniye AÇ ölçümü

Bazal ölçümleri alınmış gönüllüye metal kutuda 355 ml volüm ve 150 mg/L (355 ml volüm için 53,25 mg) kafein içeren enerji içeceği verilerek oturur pozisyonda 20 dakika içinde içilmesi istendi. Enerji içeceğinin içiminin bitişinden 60 dakika sonrasında gönüllü tekrar supin pozisyona alındı tekrar kan basıncı ve kalp hızı ölçümleri kaydedildi. Tanımlanmış olan protokole göre tekrar bazal ölçümler EKG eşliğinde R dalgasının tepesine gelecek şekilde alındı. Manşon sistolik basıncın en az 50 mmHg üzerine şişirilerek 5 dakika bekletildi, 5.dakikanın sonundan itibaren tekrar ölçümler içecek öncesi

protokoldeki sırada alındı. Tüm veriler önceden hazırlanmış olduğumuz çalışma formuna kaydedildi. Enerji içeceği öncesi ve sonrası alınan değerler aşağıda verilmiş formül kullanılarak %AAV (flow mediated vasodilation-akım aracılı vazodilatasyon) değerleri hesaplandı.

$$\%AAV = \frac{(\text{maksimum arterial \u00e7ap} - \text{bazal arterial \u00e7ap})}{\text{bazal arterial \u00e7ap}} \times 100$$

### 3.3. İstatiksel Analiz

Sağlıklı insan popülasyonuna ilişkin enerji içeceklerinin endotel fonksiyonuna akut etkisini araştırmak amacıyla yapılan araştırmamızda , enerji içeceği içmeden önceki arter \u00e7apında gözlenen artış yüzdesi ile içtikten sonra gözlenen artış yüzde ortalamaları arasındaki yaklaşık %3'lük farkı anlamlı bulabilecek örneklem büyüklüğü, 0.05 yanılma düzeyi ve minimum %80 güç için 23 kişi olarak hesaplanmıştır.

Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesi amacıyla SPSS 15 (for Windows) paket programı kullanıldı ve  $p < 0.05$  değerler anlamlı olarak kabul edildi . Aynı kişilere ilişkin ölçümler arasındaki farklılığın araştırılması amacıyla farklara ilişkin dağılımın normal dağılıma uyumu kontrol edilerek (Shapiro Wilk testi) sonrasında bağımlı örneklerde t testi ya da parametrik olmayan karşılığı kullanıldı. Çalışmanın veri toplama aşamasında elde edilen sosyo-demografik özelliklere göre karşılaştırılması amacıyla ise bağımsız grup sayısına göre Student's t testi ve/veya tek yönlü varyans analizi tekniklerinin kullanılması planlandı. Sonuçların özetlenmesi amacıyla, sürekli veriler için ortanca (minimum-maksimum) ve/veya ortalama  $\pm$  standart sapma, kategorik değişkenler için ise yüzdelikler ve frekans dağılımları kullanıldı.

## 4.BULGULAR

### 4.1.Genel Özellikler

Sağlıklı gönüllülerde enerji içeceklerinin endotel fonksiyonuna akut etkilerinin araştırıldığı istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınması için en az 23 bireyin gerektiği bu çalışmada 30 sağlıklı gönüllü değerlendirildi. Çalışmaya alınan gönüllüler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalında görev yapmakta olan sağlık çalışanları ve temizlik personelleri, ve hasta bakıcılarıydı. Ölçümler alınmadan önce tüm demografik ve antropometrik ölçümler (yaş,cinsiyet,boy, kilo) alındı.

Araştırmaya katılan bireylerin %50'i kadın,%50'i erkek olup yaş olarak en genç gönüllü 19,en yaşlı birey ise 46 yaşında idi. Katılımcıların vücut kitle indeksi (VKİ) değerleri  $24,2\pm 5,3\text{kg/m}^2$ , bazal sistolik basınçları  $111\pm 11,4$  mmHg ,diastolik kan basınçları  $72,3\pm 7,9\text{mmHg}$ , kalp hızları  $72,6\pm 9,5$  atım/dakika idi.

### 4.2.Enerji İçeceklerinin Tüketimi Sonrası Bulgular

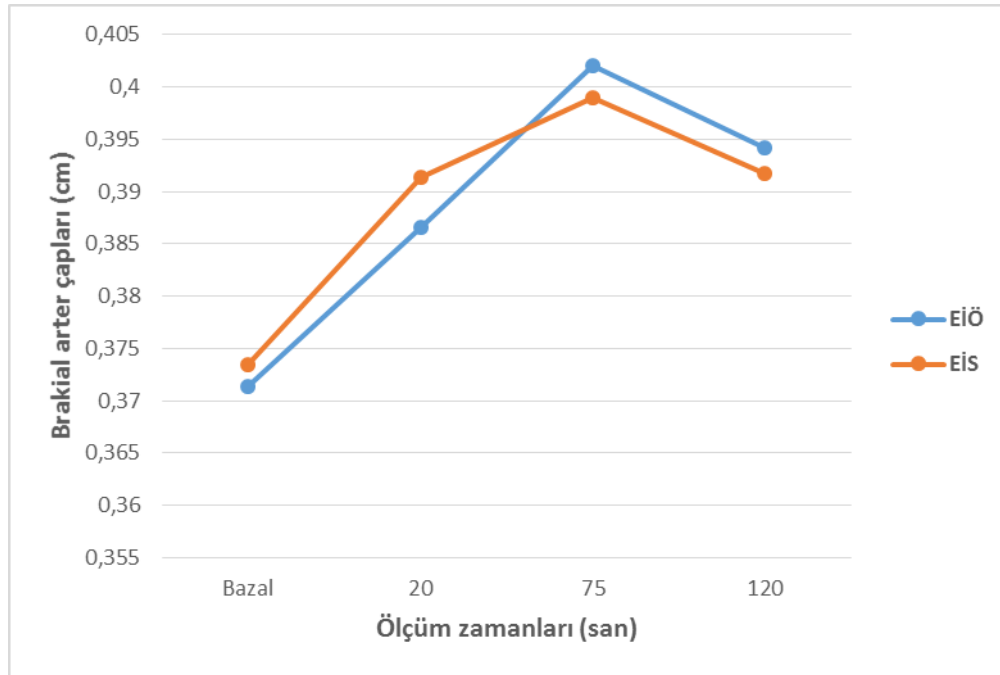
Sağlıklı Gönüllülerde uygun koşullarda AAV ile ilgili ölçümler 355 ml enerji içeceği içilmesi öncesi ve 60 dakika sonrası yapıldı. Gönüllülerin enerji içeceği öncesi ve sonrası sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, kalp hızı, bazal arterial çap, bazal kan akım hızı, ve oklüzyon sonrası maksimum çapa ulaşma süreleri ( $t_{maks}$ ) değerlendirildi. Enerji içeceği öncesi ve sonrası sistolik kan basınçları , diastolik kan basınçları, ya da kalp hızları arasında anlamlı fark izlenmedi (Tablo 4.1.). Enerji içeceği öncesi ve sonrası gerçekleştirilen AAV ölçümlerinden bazal arterial çaplar arasında yapılan karşılaştırmada anlamlı farklılık izlenmemiştir (EİÖ bazal AÇ ortalaması: $3,72\pm 0,7\text{mm}$ ; EİS bazal AÇ ortalaması: $3,76\pm 0,6$  p değeri 0,24). Bazal akımlar arasındaki karşılaştırmada da (EİÖ bazal akım hızı:  $20,69\pm 24,9$  cm/san;EİS bazal akım hızı: $18,8\pm 20,4$  cm/cm; p değeri 0,49) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Enerji içeceği öncesi ve sonrası sistolik kan basıncı ,diastolik kan basıncı , ve kalp hızı ölçümleri tablo 4.1.'de özetlenmiştir.

**Tablo 4.1.** Enerji içeceği öncesi ve sonrası SKB, DKB ve kalp hızı değerleri

	EİÖ	EİS	P
<b>SKB (mmHg)</b>	111±11,5	114±12,9	0,59
<b>DKB (mmHg)</b>	72±7,9	73±8	0,71
<b>Kalp hızı(atım/dak)</b>	72,7±9,5	70,4±9,7	0,056

EİÖ: Enerji İçeceği Öncesi; EİS: Enerji İçeceği Sonrası; SKB: Sistolik Kan Basıncı; DKB: Diyastolik Kan Basıncı;

Oklüzyon öncesi ve sonrası brakial arterin maksimal arterial çapın zamana göre değişimi Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.1.** Bazal ve Enerji içeceği sonrası arterial çap (AÇ) ölçümlerinin zamana göre değişimleri.

Şekil 4.1’de görüldüğü üzere AAV ölçümleri sırasında enerji içeceği öncesi ve sonrası arterial çaplar 75. Saniye ölçümlerinde pik yapmaktadırlar. Enerji içeceği öncesi arterial çap artışı daha hızlı bir çıkış yapmaktadır, fakat ölçümlerde devamlılık olmadığından enerji içeceği sonrası arterial çap artışında gecikmenin istatistiksel açıdan değerlendirilmesinin hatalı olacağı düşünüldü. Enerji içeceği öncesi ve sonrası ölçümlerde elde edilen hiperemi sonrası maksimum değerler arasında küçük bir fark mevcuttur ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (EİÖ maksimum AÇ:4,07±0,7mm, EİS maksimum AÇ:4,06±0,7mm; p değeri 0,79; EİÖ oklüzyon sonrası ilk 15 saniyede kan akım hız ortalaması:43,3±30,4cm/san;EİS oklüzyon sonrası ilk 15 saniyede kan akım hız ortalaması:42,3±31,4cm/san; p değeri:0,66).

### 4.3. Enerji İeeği ncesi ve Sonrası %AAV Değerlerinin Karşılaştırılması

Araştırmamız enerji içeceklerinin %AAV değerlerini etkileyebileği düşünülerek tasarlanmıştı. %AAV bazal arter çapı ve maksimum dilatasyon sonrası çap arasındaki farkın , bazal çapa oranlanması sonucu elde edilen değer olup enerji ieeği öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldı.

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi sayısal olarak enerji ieeği sonrası ortalama %AAV değeri enerji ieeği öncesi ortalama %AAV değerinden daha düşük bulunmuştur. Aradaki fark (%AAV farkı) %1,58 olarak tespit edildi, ancak p değeri 0,176 olarak istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

**Tablo 4.2.** Enerji ieeği öncesi ve sonrası sayısal ölçümler ve p değerleri

	EİÖ	EİS	P
<b>Bazal ap(mm)</b>	3,72±0,7	3,75±0,6	0,24
<b>Bazal hız(cm/san)</b>	28,9±24,9	18,8±20,4	0,45
<b>İlk 15 saniye hız (cm/san)</b>	43,3±30,4	42,3±31,4	0,66
<b>Pik A(mm)</b>	4,07±0,7	4,06±0,7	0,79
<b>%AAV</b>	9,2±4,6	8,1±4,7	0,176

EİÖ: Enerji İeeği ncesi; EİS: Enerji İeeği Sonrası; A: Arteriyel ap

#### 4.4. Alt Gruplar Arasında Enerji İeeği ncesi ve Sonrası Değerlerin Karşılaştırılması

Alt gruplar arasında da enerji ieeği öncesi ve sonrası değerler yüzde değişim olarak karşılaştırıldı. Yüzde değişimler aşığıdaki formülle hesaplandı:

$$YD = \frac{\text{enerji ieeği sonrası değerler} - \text{enerji ieeği öncesi değerler}}{\text{enerji ieeği öncesi değerler}}$$

Bu gruplar kadın ve erkek, hayatında hiç enerji ieeği tüketmeyen( hayatında çok nadir kullananlar bu gruba dahil) ve çok sık tüketen( en az ayda iki kez), orta derecede sigara içiciler ve hiç sigara içmeyenler olarak randomize edilmişti.

Çalışmaya katılan gönüllülerden 15'i kadın, 15'i erkek olarak alınmıştı. Tüm değerler yüzde değişim olarak enerji ieeği öncesi ve sonrası karşılaştırıldı. Enerji ieeği sonrası sistolik basınç yüzde değişimleri erkeklerde sayısal olarak hafif azalmış olarak, kadınlarda sistolik basınç yüzde değişimleri hafif artmış olarak kaydedildi fakat bu fark istatiksel olarak anlamlı saptanmadı (EİS erkeklerde ortalama SB %1,7 azalmış, kadınlarda ortalama SB %8 artmış ; p değerı 0,056). Enerji ieeği öncesi ve sonrası bazal kan akım hızlarının yüzde değişimi erkeklerde aynı şekilde azalma kaydedilirken, kadınlarda artış saptanmış (EİS erkeklerde bazal kan akım hızı %0,26 azalmış; kadınlarda %3 artmış; p değerı 0,026) ve bu fark istatiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Enerji ieeği öncesi ve sonrası bazal arterial çap yüzde değişiminde de aynı şekilde erkeklerde hafif azalarak , kadınlarda artış kaydedilmış, ancak bu fark istatiksel olarak anlamlı saptanmamıştır (EİS erkeklerde bazal A %0,26 azalmış, kadınlarda bazal A %3 artmış ; p değerı 0,026)

Kadın ve erkeklerde enerji ieeği öncesi ve sonrası diastolik kan basınç ölümleri, kalp hızları ve %AAV değerlerinin yüzde değişimleri arasında anlamlı farklar saptanmadı.

Diğer alt gruplardaki sistolik kan basınçları, diastolik kan basınçları , kalp hızları , bazal kan akım hızları ve %AAV değerlerinin enerji içecekleri öncesi ve sonrası yüzde değişimlerinde anlamlı farklar saptanmadı.

## 5. TARTIŞMA

Enerji içeceklerinin tüketimi özellikle gençler ve sporcular arasında giderek artmaktadır. Daha çok yüksek kafein içerikleri ile öne çıkan enerji içecekleri kafeinin yanı sıra, metabolik aktiviteye sahip olabilecek taurin, glukuronolakton, inositol, şeker gibi ek maddeler de içermektedir. Son yıllarda enerji içeceklerinin sağlık için sakıncalı olabileceği hakkında haberler ve olgu bildirimleri yayınlanmıştır. Aşırı kullanımları ile ilişkilendirilen fatal aritmi ve ölüm vakaları da bildirilmiştir(23, 104, 105). Enerji içeceklerinin genç erkeklerde hipertansiyon ve aritmi yapabildiği gösterilmiştir (106). Bir olgu sunumunda 28 yaşında bir erkek yüksek miktarda kafein içeren enerji içeceği sonrasında çarpıntı ve akut solunum yetersizliği ile acil servise başvurmuş, supraventriküler ve ventriküler taşikardisi olduğu saptanan hastanın yapılan takibinde reverzibl Takotsubo kardiyomiyopatisi saptanmıştır(107). Enerji içeceklerinin hangi mekanizmayla sağlık sorunları yaptığına dair kesin bilgiler yoktur, yapılan bazı çalışmalarda enerji içeceği kullanımının kalpte ritm üzerine etkilerini araştırılmış, kalp hızını artırdığı gösterilmiştir(4). Buna karşın enerji içecekleri ile yapılan ve kalp hızı ve kan basıncında değişiklik saptanmayan çeşitli çalışmalar da mevcuttur(108, 109). Bu çalışmaların bir kısmında kalp hızı ve kan basıncı ölçümlerin enerji içeceğinden 30-40 dk sonra yapıldığı görülmüştür. Daha önce enerji içecekleri ile yapılan çalışmalarda genel olarak enerji içeceğinden 1-3 saat sonra ölçümler yapılmıştır(110, 111). Grasser ve ark. (9) yaptıkları araştırmada enerji içeceği sonrasında ilk 40 dk içinde volüm artışına bağlanan kalp hızında geçici bir düşüş sonrası yaklaşık 90. dakikada tepe noktasına ulaşan bir artış gözlemlenmiş, sistolik ve diyastolik kan basınçlarında ise 20. dakikadan sonra başlayan artışların ancak 60. dakika sonrası istatistiksel olarak anlam kazandığını göstermişlerdir. Çalışmamızda 60. dakikadan sonra bakılan sistolik ve diyastolik kan basıncı, ve kalp hızı değerlerinde anlamlı bir fark saptamadık. Bu duruma yol açabilecek çeşitli faktörler mevcuttur. Daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan enerji içecekleri sıklıkla 80-160 mg kafein içermektedir. Yurtdışında enerji içecekleri

ile ilgili her hangi bir düzenleme yoktur ve ortalama 320mg/L kafein içerirler. Ülkemizdeki enerji içecekleri ise yasal kısıtlamalar nedeni ile daha düşük kafein içeriğine sahiptir. Bizim incelememiz benzer hacimde daha düşük (53,25 mg ) kafein içeren enerji içeceği ile yapılmıştır. Kafeinin yanı sıra yasal kısıtlamalara bağlı olarak içeriklerindeki taurin oranları da ülkemizde daha düşüktür. Örneğin Grasser ve arkadaşlarının (9) yaptığı daha önce bahsettiğimiz çalışmada gönüllülere 114 mg kafeine eşdeğer 355ml 1 kutu enerji içeceği verilmiştir ki bu düzey bizim çalışmamızdaki kafein miktarının yaklaşık iki katı kadardır. Ayrıca 200-300 mg gibi ortalama dozlarda akut kafein kullanımının kalp hızını düşürdüğü de bildirilmektedir(112). Gerçekte enerji içeceklerinde kafeinin yanı sıra başka içerikler de olması enerji içeceklerine farklı yanıtı sebep olabilir. Ayrıca kafein araştırmalarında kafein sıklıkla kahve ya da saf kafein olarak tüketilmiştir. Kahve içeriğindeki antioksidanlar kafeinin olumsuz etkilerini nötrleyebilir. Hem kafein hem de enerji içecekleri ile yapılan çoğu çalışma kan basıncında artış göstermektedir(105, 113, 114).Bizim çalışmamızdaki enerji içeceği öncesi ve sonrası kan basınçlarındaki fark olmayışını kafein miktarının daha düşük olmasına bağlayabiliriz. Her ne kadar daha önceki araştırmalar ışığında enerji içeceklerinin kan basıncı üzerine etkilerinin 1. saatten sonra anlamlı olarak değerlendirilebileceği düşünülerek ölçüm saati olarak 60. dakika seçilmişse de bu kesitsel ölçüm kan basıncı üzerine maksimum etkinin olduğu saatten önceye denk gelmiş olabilir ve bu nedenle de gerçek etkiyi yansıtmıyor olabilir.

Erkek ve kadınların karşılaştırmasında kadınlarda enerji içecekleri sonrası sistolik kan basınçlarında erkeklere oranla yüzde değişim olarak istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif yükselik kaydedildi. Bu değişim hormonlarla ilgili olabileceği gibi kadın gönüllülerin kiloları daha düşük olduğundan kilo başına tüketilen kafein, taurin, şeker gibi etkin maddelerin daha yüksek konsantrasyonda olmasına da bağlı olabilir.

Enerji içeceklerinin endotel fonksiyonuna akut etkilerini araştırma amacı ile yaptığımız araştırmada enerji içeceği öncesi ve sonrası değerlendirmelerde bazal damar çapı ve akım ile oklüzif hiperemi sonrası damar çapı ve akım

arasında bir fark izlemedik. Yine endotel fonksiyonlarının temel göstergesi olan %AAV ölçümleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi .

Grasser ve ark.(9) ise 25 sağlıklı gönüllüde enerji içeceklerinin kardiyolojik ve serebrovasküler etkilerini incelemek üzere impedans kardiyografi ve transkraniyel doppler ultrasonografi kullanmıştır. Aynı çalışmada iontoforez ve lazer akım Doppler ile mikrovasküler endotel fonksiyonları değerlendirilmiş, enerji içeceklerinin periferik vasküler rezistansta anlamlı artış saptanmamasına karşın negatif hemodinamik profil ve serebrovasküler dolaşım bozukluğu yaptığı gösterilmiştir. Enerji içeceği sonrası asetilkoline bağlı vazodilatasyonda artış gözlenmiştir ve araştırmacılar bu bulgularla enerji içeceklerinin negatif hemodinamik bulgularının endotel disfonksiyonuna atfedilemeyeceği yorumunu yapmışlardır. Worthley ve ark.(115) 50 sağlıklı gönüllüde kafein içeren enerji içeceklerinin akut dönemde trombosit fonksiyonları ve endotel fonksiyonları üzerine olan etkilerini incelemiştir. Trombosit fonksiyonları trombosit zengin plazmada adenosin difosfat(ADP) bağımlı agregometri ile incelenmiştir. Endotel fonksiyonu ise reaktif hiperemi indeksi(RHI) ile ifade edilen arteriyel tonometri ile bakılmıştır. Bu çalışmada 250 ml şekersiz, 80 mg kafein , 1000 mg taurin ve 600 mg glukuronolakton içeren enerji içeceğinin trombosit agregasyonunu artırdığı ve endotel fonksiyonunu anlamlı şekilde bozduğu görülmüştür. Arteriyel tonometri, üst kolun kan basıncı manşonu ile şişirilmesi sonrası parmak uçlarında kan akımı ölçümleri ile endotel fonksiyonunu değerlendirme yöntemidir. Bu yöntem AAV ile mukayesede daha az profesyonellik gerektirir ve hata payı daha düşük olduğundan tekrar ölçümlerin yapılması açısından daha makuldür. AAV değerlendirmelerinde görüntü kalitesinin iyi düzeyde olması ve tekrar ölçümlerin yapılmasında lokalizasyonun değişmemesi güçlük teşkil edebilmektedir. Martin ve ark. (116) 304 hasta ile yaptıkları bir çalışmada periferik arteriyel tonometri(PAT) ile klasik endotel fonksiyon incelemesi olan AAV ve hiperemik pik akım hızı zamanının integrali (VTI) incelemesi arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve AT ve VTI sonuçlarını korele bulmuşlardır, ancak AAV değerleri ile PAT arasında bir korelasyon saptanmamıştır. VTI ve

PAT teknikleri daha çok mikrovasküler yatağı değerlendirmektedir. Aizer ve arkadaşlarının çalışması ile birkaç çalışmada PAT ile AAV arasında ilişkinin olmadığı yönünde kanıtlar mevcuttur(117, 118). AAV daha geniş çaplı arterlerin yanıtlarının araştırılmasında kullanışlı bir teknik olarak görülmüştür. Brakial arter gibi orta çaplı arterin vazodilatör yanıtı daha çok NO bağımlı olmasına karşın, mikrovasküler yataktaki hiperemik yanıtlar daha kompleks olaylara bağlıdır. Mikrovasküler yatakta NO'dan ziyade endotel salınımlı hiperpolarizasyon faktörü (EDHF), vazodilatör prostoglandinler, K<sup>+</sup>ATP kanalı ve adenosinin de hiperemik yanıtta önemli rol oynadığı düşünülür Allan ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada 26 periferik arter hastalığı olan ve 25 sağlıklı bireylerde yapılan AAV ve PAT ölçümlerinin analizlerinde periferik arter hastalarında AAV yanıtının anlamlı olarak düşük olduğu ancak RHİ değerlerinin karşılaştırmasında iki grup arasında anlamlı fark saptanmadığı gözlenmiştir(117). AAV ve RHİ sonuçları korele bulunmamıştır. Kullanan teknikte farklılık nedeniyle Worthler ark.(115) sonuçları ile araştırmamızdaki sonuçlar arasında farklılık olması muhtemeldir.

Bildiğimiz kadarıyla araştırmamız, enerji içeceklerinin endotel fonksiyonları üzerine olan etkilerini araştırırken yöntem olarak AAV kullanan ilk çalışmadır. Bu güne kadar sadece 47 yaşında sağlıklı bir erkekte yapılan tek olguluk bir incelemede 240mg kafein ve 2000mg taurin içeren enerji içeceği alımından 50 dakika ve 90 dakika sonra QTc intervalında %5,6 artış ve %AAV değerlerinde bazale göre anlamlı azalma olduğu saptamıştır (8).

Kafein içeren enerji içecekleri özellikle egzersiz öncesi tüketildiğinden kafeinin egzersiz üzerine etkileri sıklıkla araştırılmıştır. Saf kafein tabletleri ile yapılan bir çalışmada PET çalışmaları ile kafein alımı sonrası istirahatte miyokardial kan dolaşım bozukluğu saptanmadığı halde ,egzersiz sonrası istatistiksel olarak anlamlı miyokardiyal kan dolaşım bozukluğu saptanmıştır ve bunun endotelial fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi ve aritmilerin nedeni olabileceği düşünülmüştür(18).

Yüksek kafein içeren diğer sık tüketilen içecek olan kahve ile yapılan bir metaanalizde orta miktarda kahve tüketimi ile kardiyovasküler mortalitenin azaldığı gösterilmiştir(119). Yapılan başka bir çalışmada kronik kahve

kullanımının endotelial fonksiyonunu iyi yönde etkilediği sonucuna varılmıştır(119). Endotel fonksiyonları üzerine yapılan araştırmalarda kafeinli kahve tüketimi ile endotel fonksiyonları bozulurken(16) kafeinsiz kahve endotel fonksiyonlarını olumlu yönde etkilemektedir(17). Bu bulgular kahve içinde bulunan bitkisel antioksidanların endotel fonksiyonunu olumlu etkilediği ancak kafeinin olumsuz etkilerinin bu etkileri nötrlediği şeklinde yorumlanabilir. Aynı şekilde bizim araştırmamızda da düşük dozda verilen kafeinin etkileri taurin tarafından nötrlenmiş olabilir.

AAV değerlerinin karşılaştırılmasında sayısal olarak AAV değerlerinde enerji içeceği sonrası %1,58 bir bozulma tespit ettiyse de bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. %AAV yanıtını diurnal ritmin de etkileyebileceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (120). İki çalışmada, sabah, öğlen ve akşam saatlerinde %AAV yanıtları karşılaştırılarak, sabah saatlerinde endotel fonksiyonunun anlamlı şekilde bozuk olduğu gösterilmiştir(121, 122) ve bunun sabah saatlerinde kardiyovasküler olayların pik yapmasının nedeni olabileceği düşünülmüştür. Bu verilere dayanarak ölçümlerin günün aynı saatlerinde yapılması önerilir. Fakat bizim çalışmamızın enerji içeceği öncesi ve sonrası ölçümlerinin yapılması, ve ölçümlerin her hasta için aynı günde yapılması , enerji içecekleri öncesi ölçümlerinin sabah saatlerine enerji içecekleri sonrası ölçümlerinin öğlen saatlerine (bazal ölçümler alınmış, sonra personelin uygun saatinde 20 dakika enerji içeceği içirilerek 60 dakika sonra ölçümler tekrarlanmış) denk gelmesine neden olmuştur. Bu da enerji içecekleri sonrası olan AAV yanıtlarının kontrol edilemeyen bu faktör nedeni ile farklı çıkmasına neden olabilir. Araştırmamızda kadınlarda enerji içecekleri sonrası bazal kan akım hızlarında ve bazal arter çapı yüzde değişiminde istatistiksel olarak anlamlı olan artış saptanmış aynı değerlerde erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma saptanmıştır. Premenopozal kadınlarda estrogenlerin kan basıncı regülasyonu ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir(123, 124). Enerji içeceklerine karşı erkeklerle karşılaştırılırken kan basıncı ; bazal kan akım ve arter çapı değişiminde artışın hormonlarla ilgili olduğu düşünülebilir. Diğer taraftan arter çapı

ölçümleri otomatik değil manuel olarak yapıldığından daha küçük çaplı arterlere sahip olan kadınlarda ölçüm hatasına yol açmış olabilir.

Son yıllarda AAV analizlerinde ortalama kan akım hızının damar çapına oranının (shear rate),ve bu ölçümlerin zamana göre değişiminin yaptığı eğri altında kalan alanın(area under curve) ölçümlere eklenmesi ve bulguların buna göre düzeltildikten sonra tartışılmasının daha uygun olduğu söylenmektedir. Fakat bu hesaplamalar ölçümlerde süreklilik gerektirir. Bizim çalışmamızda ölçümlerde teknik olarak süreklilik olmadığından bu hesaplamalar yapılamadı . Sürekli kayıt alınarak shear rate ve eğri altında kalan alan hesaplanabilse idi daha farklı sonuçlar elde edilebilirdi.

## 6.SONUÇLAR

Sağlıklı gönüllülerde enerji içeceklerinin endotel fonksiyonuna akut etkisini incelediğimiz çalışmamızda 30 sağlıklı gönüllünün enerji içeceği öncesi ve sonrası kan basıncı , kalp hızları ve %AAV yanıtı için gerekli olan ölçümler yapıldı. Enerji içecekleri öncesi ve sonrası kan basıncı, kalp hızları değerlerinin karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Enerji içeceği öncesi ve sonrası % AAV yanıtı karşılaştırmasında enerji içeceği sonrası %AAV yanıtında %1,58 lik bir düşüş bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

Sonuç olarak piyasada mevcut olan 355 ml'lik 53,5 mg kafein içeren 1 kutu enerji içeceği sağlıklı gönüllerde endotel fonksiyonunu, kan basıncı ve kalp hızı değerlerini akut olarak etkilemediğini saptadık. Erkeklerde ve kadınlarda bazal kan akım hız ve arterial yüzde değişimleri olarak enerji içeceklerinin içeriklerine karşı daha keskin tepki verişinin hormonal dengelere bağlanabileceğini düşündük.

## ÖZET

### **Sağlıklı Gönüllülerde Enerji İçeceklerinin Endotel Fonksiyonuna Akut Etkisi**

**Amaç:** Başta gençler olmak üzere toplum genelinde enerji içeceği kullanımını hızlı bir şekilde artmaktadır. Ancak enerji içeceklerinin sağlık üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızı enerji içeceklerinin akım aracılı vazodilatasyon (AAV) yanıtı ile endotel disfonksiyonuna akut etkilerinin araştırılması amacıyla tasarladık.

**Materyal-Metod:** Araştırmamıza bilinen hastalığı olmayan 19 ile 46 yaş arasında sağlıklı 15 erkek ve 15 kadın gönüllü alındı. Gönüllülerin uygun hazırlığını takiben ,aynı gün içerisinde enerji içeceği öncesi kan basıncı, kalp hızları ,ve %AAV yanıtları değerlendirildi. Sonrasında 20 dakika içinde 355ml'lik metal kutuda enerji içeceği 20 dakikada içirildi. İçecek bitiminden 60 dakika sonrasında tekrar kan basıncı, kalp hızları, ve %AAV yanıtları değerlendirilerek karşılaştırmak için kaydedildi.

**Bulgular:** Enerji içecekleri öncesi ve sonrası sistolik kan basınçları ( $111 \pm 11,5$ ;  $114 \pm 12,9$ ;  $p=0,59$ ), diastolik kan basınçları ( $72 \pm 7,9$ ;  $73 \pm 8$ ;  $p=0,71$ ), kalp hızları ( $72,7 \pm 9,5$ ;  $70,4 \pm 9,7$ ;  $p=0,056$ ), bazal arterial çaplar ( $3,7 \pm 0,7$ ;  $3,8 \pm 0,6$ ;  $p=0,24$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Enerji içecekleri öncesi ve sonrası bazal kan akım hızları arasındaki karşılaştırmada anlamlı farklılık izlenmedi ( $28,9 \pm 24,9$ ;  $26 \pm 20,4$ ;  $p=0,49$ ). Enerji içeceği öncesi ve sonrası %AAV yanıtının karşılaştırılmasında enerji içeceği sonrası sayısal olarak daha düşük %AAV yanıtı bulundu, arada %1,58 fark tespit edildi, fakat bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ( $9,7 \pm 4,6$ ;  $8,1 \pm 4,7$ ;  $p=0,176$ ).

**Sonuç:** Türkiyede mevcut olan 355ml'lik 53,25mg kafein içeren 1 kutu enerji içeceği sağlıklı gönüllülerde endotel fonksiyonunu ,kan basıncı ve kalp hızı değerlerini akut olarak etkilememektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Enerji içecekleri, endotel disfonksiyonu, akım aracılı vazodilatasyon

## SUMMARY

### Effects of Energy Drinks on Endothelial Function in Healthy Volunteers

**Objective:** Energy drink consumption is increasing among the population, especially among adolescents and young adults. The health effects of energy drinks are unknown. This study investigates the effects of energy drinks on endothelial functions assessed by flow-mediated dilation (FMD) of the brachial artery.

**Material and Methods:** 30 healthy volunteers (15 male, 15 female) aging 19 to 46 years were included in the study. Demographic variables, baseline heart rate and blood pressures were recorded. Flow-mediated dilation measurements of the brachial artery were performed and recorded per protocol. %FMD values were calculated. The volunteers were asked to drink 355 ml of energy drinks containing 53,25 mg caffeine after baseline measurements, and all measurements were repeated 60 minutes later. Baseline and post energy drink values were compared.

**Results:** Systolic blood pressure ( $111\pm 11,5$ ;  $114\pm 12,9$ ;  $p=0,59$ ;  $p=0,59$ ), diastolic blood pressure ( $72\pm 7,9$ ;  $73\pm 8$ ;  $p=0,71$ ), and heart rate values ( $72,7\pm 9,5$ ;  $70,4\pm 9,7$ ;  $p=0,056$ ) were similar before and after energy drinks. Basal arterial diameters ( $3,7\pm 0,7$ ;  $3,8\pm 0,6$ ;  $p=0,24$ ) and basal blood velocities ( $28,9\pm 24,9$ ;  $26\pm 20,4$ ;  $p=0,49$ ) also did not change after energy drink consumption. %FMD levels were 1,58% lower after energy drink consumption but the difference did not reach statistical significance ( $9,7\pm 4,6$ ;  $8,1\pm 4,7$ ;  $p=0,176$ ).

**Conclusion:** Energy drinks containing 53,25 mg of caffeine/355 ml can did not have any influence on blood pressure, heart rate or endothelial functions in healthy volunteers.

**Key Words:** Energy drinks, endothelial dysfunction, flow-mediated dilation

## 9.KAYNAKLAR

1. Mintel Energy Drink Report 2006, 07.05.06.
2. Meier, Barry "Energy Drinks Promise Edge, but Experts Say Proof Is Scant". The New York Times. Retrieved January 2, 2013.
3. Mesas AE, Leon-Munoz LM, Rodriguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E. The effect of coffee on blood pressure and cardiovascular disease in hypertensive individuals: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(4):1113-26.
4. Yamakoshi T, Matsumura K, Hanaki S, Rolfe P. Cardiovascular hemodynamic effects of Red Bull(R) Energy Drink during prolonged, simulated, monotonous driving. *SpringerPlus.* 2013;2(1):215.
5. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2032.
6. Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? *Circulation* 2004; 109:1813.
7. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115(10):1285-95.
8. Higgins JP. Endothelial function acutely worse after drinking energy beverage. *Int J Cardiol.* 2013;168(2):e47-9.
9. Grasser EK, Dulloo A, Montani JP. Cardiovascular responses to the ingestion of sugary drinks using a randomised cross-over study design: Does glucose attenuate the blood pressure-elevating effect of fructose? *Br J Nutr.* 2014;112(2):183-92.
10. *Pediatrics Child Health* Vol 17 No 2 February 2012
11. Ferreira SE, de Mello MT, Pompeia S, de Souza-Formigoni ML. Effects of energy drink ingestion on alcohol intoxication. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006;30(4):598-605.
12. Lovett R "Coffee: The demon drink?". *New Scientist* (24 September 2005).
13. Fisone G, Borgkvist A, Usiello A. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *Cell Mol Life Sci.* 2004;61(7-8):857-72.

14. Godos J, Pluchinotta FR, Marventano S, Buscemi S, Li Volti G, Galvano F, et al. Coffee components and cardiovascular risk: beneficial and detrimental effects. *Int J Food Sci Nutr*. 2014;1-12.
15. Umemura T, Ueda K, Nishioka K, Hidaka T, Takemoto H, Nakamura S, et al. Effects of acute administration of caffeine on vascular function. *Am J Cardiol*. 2006;98(11):1538-41.
16. Buscemi S, Verga S, Batsis JA, Donatelli M, Tranchina MR, Belmonte S, et al. Acute effects of coffee on endothelial function in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(5):483-9.
17. Buscemi S, Verga S, Batsis JA, Tranchina MR, Belmonte S, Mattina A, et al. Dose-dependent effects of decaffeinated coffee on endothelial function in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr*. 2009;63(10):1200-5.
18. Higgins JP, Babu KM. Caffeine reduces myocardial blood flow during exercise. *Am J Med*. 2013;126(8):730.e1-8.
19. Souza D, Casonatto J, Poton R, Willardson J, Polito M. Acute effect of caffeine intake on hemodynamics after resistance exercise in young non-hypertensive subjects. *Res Sports Med*. 2014;22(3):253-64.
20. "Food Standards Agency publishes new caffeine advice for pregnant women". Retrieved 3 August 2009.
21. Ker K, Edwards PJ, Felix LM, Blackhall K, Roberts I. Caffeine for the prevention of injuries and errors in shift workers. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2010(5):Cd008508.
22. Berger AJ, Alford K. Cardiac arrest in a young man following excess consumption of caffeinated "energy drinks". *Med J Aust*. 2009;190(1):41-3.
23. Avci S, Sarikaya R, Buyukcam F. Death of a young man after overuse of energy drink. *Am J Emerg Med*. 2013;31(11):1624.e3-4.
24. Pelchovitz DJ, Goldberger JJ. Caffeine and cardiac arrhythmias: a review of the evidence. *Am J Med*. 2011;124(4):284-9.
25. Huxtable RJ. Physiological actions of taurine. *Physiol Rev*. 1992;72(1):101-63.
26. Bouckenoghe T, Remacle C, Reusens B. Is taurine a functional nutrient? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006;9(6):728-33.

27. Schaffer SW, Shimada K, Jong CJ, Ito T, Azuma J, Takahashi K. Effect of taurine and potential interactions with caffeine on cardiovascular function. *Amino Acids*. 2014;46(5):1147-57.
28. Chang, PL "Nos Energy Drink – Review". [energyfanatics.com](http://energyfanatics.com). Retrieved 2010-05-21.
29. Yanagita, T; Han, SY; Hu, Y; Nagao, K; Kitajima, H; Murakami, S "Taurine reduces the secretion of apolipoprotein B100 and lipids in HepG2 cells". *Lipids in Health and Disease* (2008). 7: 38.
30. Baker EM, Bierman EL, Plough IC "Effect of D-glucuronic acid and D-glucuronolactone on ascorbic acid levels in blood and urine of man and dog". *Am J Clin Nutr* (1960). 8: 369–73.
31. Brunton L L, Blumenthal D K, Murri N, Dandan R H, Knollmann B C. Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 12th ed. New York: McGraw-Hill, 2011.
32. Janssens SP, Shimouchi A, Quertermous T, et al. Cloning and expression of a cDNA encoding human endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1992; 267:14519.
33. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98:1842.
34. Furchgott R F, Zawadzki JV. Obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
35. Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res*. 1987;61(6):866-79.
36. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
37. Vallance P, Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart* 2001; 85: 342-50.

38. Opie LH. Angiotensin converting enzyme inhibitors. New York: Authors' Publishing House; 1992. p.211-38. .
39. Ferroni P Et al: Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. *Nut Met.& cardiovascular diseases* 2006;16: 222-233.
40. Tiefenbacher CP, Bleeke T, Vahl C, et al. Endothelial dysfunction of coronary resistance arteries is improved by tetrahydrobiopterin in atherosclerosis. *Circulation* 2000; 102:2172. .
41. Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001; 358:2127.
42. Mangin EL Jr, Kugiyama K, Nguy JH, et al. Effects of lysolipids and oxidatively modified low density lipoprotein on endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. *Circ Res* 1993; 72:161.
43. Landmesser U, Merten R, Spiekermann S, et al. Vascular extracellular superoxide dismutase activity in patients with coronary artery disease: relation to endothelium-dependent vasodilation. *Circulation* 2000; 101:2264.
44. Kaye DM, Ahlers BA, Autelitano DJ, Chin-Dusting JP. In vivo and in vitro evidence for impaired arginine transport in human heart failure. *Circulation* 2000; 102:2707.
45. Clarkson P, Celermajer DS, Powe AJ, et al. Endothelium-dependent dilatation is impaired in young healthy subjects with a family history of premature coronary disease. *Circulation* 1997; 96:3378.
46. Lundman P, Eriksson MJ, Stühlinger M, et al. Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:111.
47. Al Suwaidi J, Higano ST, Holmes DR Jr, et al. Obesity is independently associated with coronary endothelial dysfunction in patients with normal or mildly diseased coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37:1523.
48. Shinozaki K, Hirayama A, Nishio Y, et al. Coronary endothelial dysfunction in the insulin-resistant state is linked to abnormal pteridine metabolism and vascular oxidative stress. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:1821.

49. Arcaro G, Cretti A, Balzano S, et al. Insulin causes endothelial dysfunction in humans: sites and mechanisms. *Circulation* 2002; 105:576.
50. Balletshofer BM, Rittig K, Enderle MD, et al. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation* 2000; 101:1780.
51. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, et al. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28:573.
52. Mäkimattila S, Virkamäki A, Groop PH, et al. Chronic hyperglycemia impairs endothelial function and insulin sensitivity via different mechanisms in insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1996; 94:1276.
53. Mäkimattila S, Mäntysaari M, Groop PH, et al. Hyperreactivity to nitrovasodilators in forearm vasculature is related to autonomic dysfunction in insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1997; 95:618.
54. Piatti P, Fragasso G, Monti LD, et al. Acute intravenous L-arginine infusion decreases endothelin-1 levels and improves endothelial function in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms: correlation with asymmetric dimethylarginine levels. *Circulation* 2003; 107:429.
55. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, et al. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24:471.
56. Ghiadoni L, Donald AE, Cropley M, et al. Mental stress induces transient endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2000; 102:2473.
57. Spiekler LE, Hürlimann D, Ruschitzka F, et al. Mental stress induces prolonged endothelial dysfunction via endothelin-A receptors. *Circulation* 2002; 105:2817.
58. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109:III27.
59. Schächinger V, Britten MB, Elsner M, et al. A positive family history of premature coronary artery disease is associated with impaired endothelium-dependent coronary blood flow regulation. *Circulation* 1999; 100:1502.

60. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, et al. Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients <40 years of age with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1996; 78:1210.
61. Brevetti G, Martone VD, de Cristofaro T, et al. High levels of adhesion molecules are associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with peripheral arterial disease. *Thromb Haemost* 2001; 85:63.
62. Quyyumi AA, Dakak N, Andrews NP, et al. Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary atherosclerosis. *J Clin Invest* 1995; 95:1747.
63. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, et al. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1997; 95:2068.
64. Diodati JG, Dakak N, Gilligan DM, Quyyumi AA. Effect of atherosclerosis on endothelium-dependent inhibition of platelet activation in humans. *Circulation* 1998; 98:17.
65. Boltwood MD, Taylor CB, Burke MB, et al. Anger report predicts coronary artery vasomotor response to mental stress in atherosclerotic segments. *Am J Cardiol* 1993; 72:1361.
66. Lacy CR, Contrada RJ, Robbins ML, et al. Coronary vasoconstriction induced by mental stress (simulated public speaking). *Am J Cardiol* 1995; 75:503.
67. Yamamoto M, Hara H, Moroi M, Ito S, Nakamura M, Sugi K. Impaired digital reactive hyperemia and the risk of restenosis after primary coronary intervention in patients with acute coronary syndrome. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2014;21(9):957-65.
68. Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter DH, et al. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000; 102:1000.
69. Alexander RW, Hennigar RA, Griendling KK. Hypertension: Mechanisms and therapy. In: Braunwald E, Hollenberg N editors. *Atlas of Heart Diseases*. Philadelphia: Current Medicine Inc.; 1995. chapter 4.

70. Koenig W. "Atherosclerosis involves more than just lipids: Focus on inflammation." *Eur. Heart J.* 1999;1:19-26.
71. Heitzer T, Sclingszig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2001;104:2673-2678.
72. Brovkovich V, Dobrucki LW, Brovkovich S, et al. Nitric oxide release from normal and dysfunctional epithelium. *J Physiol Pharmacol.* 1999;50:575-586.
73. Kırkpantur A. ve Altun B. Endotel disfonksiyonu ve hipertansiyon. *Türk J. Cardiol.* 2006;9:55-61.
74. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-5. .
75. Barton M, Kiowski W. The therapeutic potential of endothelin receptor antagonists in cardiovascular disease. *Curr Hypertens Rep.* 2001; 3: 322-30. .
76. Spieker LE, Noll G, Ruschitzka FT, et al. Working under pressure: the vascular endothelium in arterial hypertension. *J Hum Hypertens.* 2000;14:617-630.
77. McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR, Andrews JW, Hayes JR. Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1992;35(8):771-776.
78. Prior JO, Quinones MJ, Hernandez-Pampaloni M, Facta AD, Schindler TH, Sayre JW, Hsueh WA, Schelbert HR. Coronary Circulatory Dysfunction in Insulin Resistance, Impaired Glucose Tolerance, and Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation.* 2005;111(18):2291-2298.
79. Woodman RJ, Chew GT, Watts GF. Mechanisms, significance and treatment of vascular dysfunction in type 2 diabetes mellitus: focus on lipid-regulating therapy. *Drugs.* 2005;65(1):31-74.
80. Thorand B, Baumert J, Chambless L, Meisinger C, Kolb H, Doring A, Lowel H, Koenig W. MONICA/KORA Study Group. Elevated markers of endothelial dysfunction predict type 2 diabetes mellitus in middle-aged men

and women from the general population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(2):398–405.

81. Lim SC, Caballero AE, Smakowski P, LoGerfo FW, Horton ES, Veves A. Soluble intercellular adhesion molecule, vascular cell adhesion molecule, and impaired microvascular reactivity are early markers of vasculopathy in type 2 diabetic individuals without microalbuminuria. *Diabetes Care.* 1999;22(11):1865.

82. Guerci B, Kearney-Schwartz A, Bohme P, Zannad F, Drouin P. Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. Part 1: physiology and methods for exploring the endothelial function. *Diabetes Metab.* 2001;27(4 Pt 1):425–434. [PubMed].

83. Papaioannou GI, Seip RL, Grey NJ, Katten D, Taylor A, Inzucchi SE, Young LH, Chyun DA, Davey JA, Wackers FJ. et al. Brachial artery reactivity in asymptomatic patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria (from the Detection of Ischemia in Asymptomatic Diabetics-Brachial Artery Reactivity study) *Am J Cardiol.* 2004;94(3):294–299.

84. Chew GT, Watts GF. Coenzyme Q10 and diabetic endotheliopathy: oxidative stress and the 'recoupling hypothesis'. *QJM.* 2004;97(8):537–548.

85. Katusic ZS. Vascular endothelial dysfunction: does tetrahydrobiopterin play a role? *Am J Physiol - Heart Circ Physiol.* 2001;281(3):H981–H986.

86. Laurent S, Lacolley P, Brunel P, Laloux B, Pannier B, Safar M. Flow-dependent vasodilation of brachial artery in essential hypertension. *Am J Physiol* 1990;258:H1004–11.

87. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111–5.

88. Stadler RW, Karl WC, Lees RS. New methods for arterial diameter measurement from B-mode images. *Ultrasound Med Biol* 1996;22: 25–34.

89. Stadler RW, Taylor JA, Lees RS. Comparison of B-mode, M-mode and echo-tracking methods for measurement of the arterial distension waveform. *Ultrasound Med Biol* 1997;23:879–87.

90. Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW, Brownlee M, Bones C, Newcombe RG, et al. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation*. 1998;98(18):1848-52.
91. Adams MR, Robinson J, McCredie R, et al. Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1998;32: 123–7.
92. Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Kuzuya M, Satake S, Ishikawa T, Hidaka H, Iguchi A. Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochemical and biophysical research communications* 1995;214:847–855. [PubMed: 7575554].
93. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*. 1999;340(23):1801-11.
94. Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, et al. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol*. 1999;33(5):1379-85.
95. Harvey PJ, Morris BL, Kubo T, Picton PE, Su WS, Notarius CF, et al. Hemodynamic after-effects of acute dynamic exercise in sedentary normotensive postmenopausal women. *J Hypertens*. 2005;23(2):285-92.
96. Padilla J, Harris RA, Fly AD, Rink LD, Wallace JP. The effect of acute exercise on endothelial function following a high-fat meal. *Eur J Appl Physiol*. 2006;98(3):256-62.
97. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol*. 1997;79(3):350-4.
98. Jarvisalo MJ, Jartti L, Marniemi J, Ronnema T, Viikari JS, Lehtimäki T, et al. Determinants of short-term variation in arterial flow-mediated dilatation in healthy young men. *Clin Sci (Lond)*. 2006;110(4):475-82.
99. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(2):257-65.

100. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, et al. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005;23(1):7-17.
101. Frick M, Suessenbacher A, Alber HF, Dichtl W, Ulmer H, Pachinger O, et al. Prognostic value of brachial artery endothelial function and wall thickness. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(6):1006-10.
102. Ras RT, Streppel MT, Draijer R, Zock PL. Flow-mediated dilation and cardiovascular risk prediction: a systematic review with meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2013;168(1):344-51.
103. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension*. 2010;55(5):1075-85.
104. Chrysant SG. Cardiovascular complications from consumption of high energy drinks: recent evidence. *J Hum Hypertens*. 2014 Jun 19. doi: 10.1038/jhh.2014.47. [Epub ahead of print].
105. Ammar R, Song JC, Kluger J, White CM. Evaluation of electrocardiographic and hemodynamic effects of caffeine with acute dosing in healthy volunteers. *Pharmacotherapy*. 2001;21(4):437-42.
106. Usman, A. and Jawaid, A. Hypertension in a young boy: an energy drink effect. *BMC Res Notes*. 2012; 5: 591.
107. Kaoukis A, Panagopoulou V, Mojibian HR, Jacoby D. Reverse Takotsubo cardiomyopathy associated with the consumption of an energy drink. *Circulation*. 2012;125(12):1584-5.
108. Baum M, Weiss M. The influence of a taurine containing drink on cardiac parameters before and after exercise measured by echocardiography. *Amino Acids*. 2001;20(1):75-82.
109. Alford C, Cox H, Wescott R. The effects of red bull energy drink on human performance and mood. *Amino Acids*. 2001;21(2):139-50.
110. Phan JK, Shah SA. Effect of caffeinated versus noncaffeinated energy drinks on central blood pressures. *Pharmacotherapy*. 2014;34(6):555-60.

111. Black MA, Cable NT, Thijssen DH, Green DJ. Importance of measuring the time course of flow-mediated dilatation in humans. *Hypertension*. 2008;51(2):203-10.
112. Smits P, Boekema P, De Abreu R, Thien T, van 't Laar A. Evidence for an antagonism between caffeine and adenosine in the human cardiovascular system. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1987;10(2):136-43.
113. Bender AM, Donnerstein RL, Samson RA, Zhu D, Goldberg SJ. Hemodynamic effects of acute caffeine ingestion in young adults. *Am J Cardiol*. 1997;79(5):696-9.
114. Whitsett TL, Manion CV, Christensen HD. Cardiovascular effects of coffee and caffeine. *Am J Cardiol*. 1984;53(7):918-22.
115. Worthley MI, Prabhu A, De Sciscio P, Schultz C, Sanders P, Willoughby SR. Detrimental effects of energy drink consumption on platelet and endothelial function. *Am J Med*. 2010;123(2):184-7.
116. Martin BJ, Gurtu V, Chan S, Anderson TJ. The relationship between peripheral arterial tonometry and classic measures of endothelial function. *Vasc Med*. 2013;18(1):13-8.
117. Allan RB, Delaney CL, Miller MD, Spark JI. A comparison of flow-mediated dilatation and peripheral artery tonometry for measurement of endothelial function in healthy individuals and patients with peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2013;45(3):263-9.
118. Aizer J, Karlson EW, Chibnik LB, Costenbader KH, Post D, Liang MH, et al. A controlled comparison of brachial artery flow mediated dilation (FMD) and digital pulse amplitude tonometry (PAT) in the assessment of endothelial function in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2009;18(3):235-42.
119. Crippa A, Discacciati A, Larsson SC, Wolk A, Orsini N. Coffee Consumption and Mortality From All Causes, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis. *Am J Epidemiol*. 2014 Aug 24. pii: kwu194. [Epub ahead of print].
120. Jones H, Lewis NC, Thompson A, Marrin K, Green DJ, Atkinson G. Diurnal variation in vascular function: role of sleep. *Chronobiol Int*. 2012;29(3):271-7.

121. Etsuda H, Takase B, Uehata A, Kusano H, Hamabe A, Kuhara R, et al. Morning attenuation of endothelium-dependent, flow-mediated dilation in healthy young men: possible connection to morning peak of cardiac events? *Clin Cardiol.* 1999;22(6):417-21.
122. Otto ME, Svatikova A, Barretto RB, Santos S, Hoffmann M, Khandheria B, et al. Early morning attenuation of endothelial function in healthy humans. *Circulation.* 2004;109(21):2507-10.
123. Chakrabarti S, Morton JS, Davidge ST. Mechanisms of estrogen effects on the endothelium: an overview. *Can J Cardiol.* 2014;30(7):705-12.
124. Prabhushankar R, Krueger C, Manrique C. Membrane estrogen receptors: their role in blood pressure regulation and cardiovascular disease. *Curr Hypertens Rep.* 2014;16(1):408.